



UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTADE DE FÍSICA - DEPARTAMENTO DE FÍSICA APLICADA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN TERBIPROMAT

Aplicación de un procedimiento experimental basado en la calorimetría y el análisis térmico para el estudio de la productividad y sostenibilidad en suelos



Memoria presentada por Dña. Olga Núñez Fernández
para optar al Grado de Doctora por la USC
Santiago de Compostela, a 7 de Julio de 2011



UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTADE DE FÍSICA - DEPARTAMENTO DE FÍSICA APLICADA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN TERBIPROMAT

Aplicación de un procedimiento experimental basado en la calorimetría y el análisis térmico para el estudio de la productividad y sostenibilidad en suelos



Memoria presentada por Dña. Olga Núñez Fernández
para optar al Grado de Doctora por la USC
Santiago de Compostela, a 7 de Julio de 2011



José A. Rodríguez Añón, Profesor Titular de Universidad del Departamento de Física Aplicada de la Universidade de Santiago de Compostela,

INFORMA:

Que la memoria titulada ***“Aplicación de un procedimiento experimental basado en la calorimetría y el análisis térmico para el estudio de la productividad y sostenibilidad en suelos”*** ha sido realizada, bajo su dirección y la de los Doctores Jorge Proupín Castiñeiras y María Villanueva López, por la Licenciada Dña. Olga María Núñez Fernández, y constituye la Tesis Doctoral que presenta para optar al Grado de Doctora por la USC.

Santiago de Compostela, a 4 de Julio de 2011

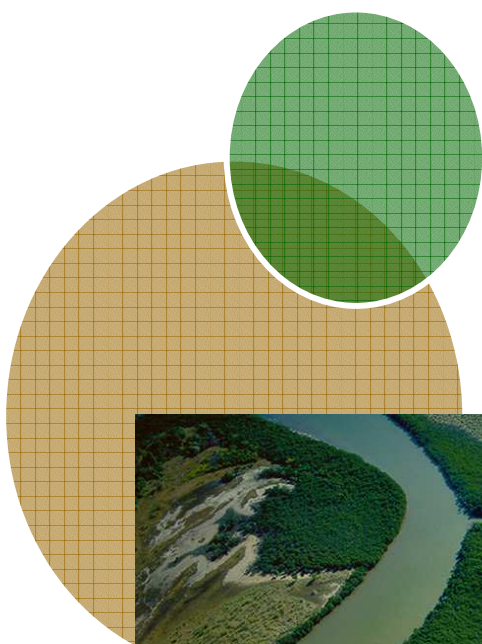
Fdo. José A. Rodríguez Añón

Fdo. María Villanueva López

Fdo. Jorge Proupín Castiñeiras

Fdo. Olga María Núñez Fernández

Agradecimientos.



Le cœur de Voh en 1990, Nouvelle Calédonie. (20° 56'S- 164° 39'E).
Yann Arthus-Bertrand.

Agradecimientos.

Quisiera agradecer sinceramente la colaboración de todas aquellas personas que de un modo u otro han participado en la realización de este trabajo, especialmente José, Xurxo y María, que lo han hecho todo por mí.

Índice.

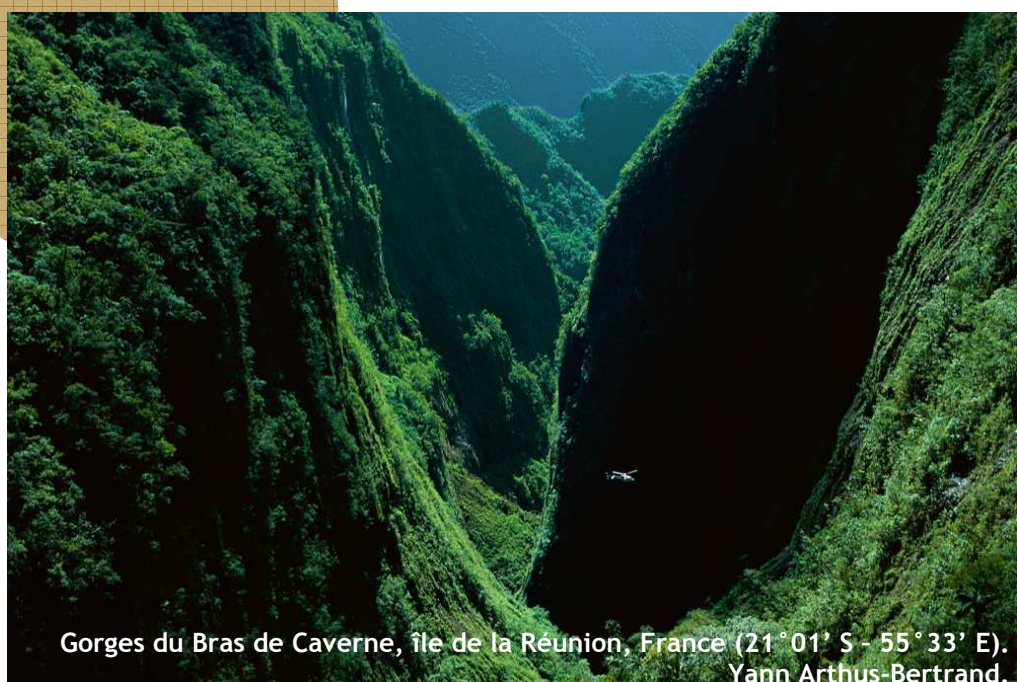
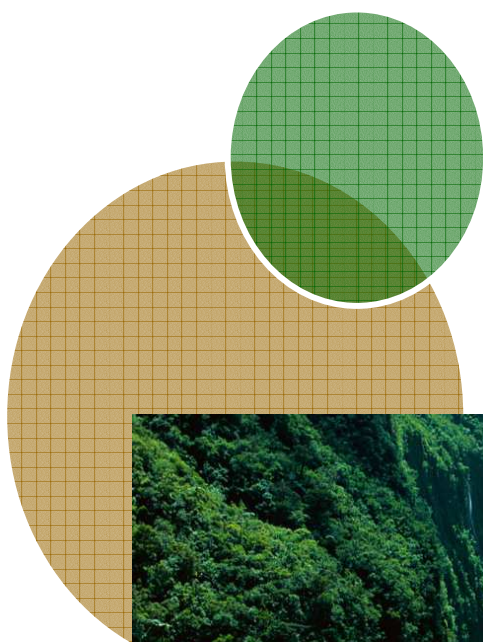


<http://weed.cl/tag/germinar/>

Índice.

Prólogo	3
Capítulo 1. Bases teóricas de la investigación	13
Capítulo 2. Descripción de la investigación	47
Capítulo 3. Presentación y discusión de los resultados	91
Capítulo 4. Conclusiones	139
Glosario	145
Anexo I. Contenido en materia orgánica, número más probable de microorganismos, humedad y temperatura suelo	151
Anexo II. Datos DSC, contenido en materia orgánica y termogramas DSC	152
Anexo III. Datos DSC y número más probable de microorganismos	153
Anexo IV. Termogramas DSC y curvas DTG	154
Anexo V. Datos de Q_{DSC} y datos Q_{total} (kJ kg^{-1}) y $Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1}) del TAM	155
Índice de tablas	159
Índice de figuras	163
Artículos internacionales publicados por la autora	169

Prólogo.



Gorges du Bras de Caverne, île de la Réunion, France (21° 01' S - 55° 33' E).
Yann Arthus-Bertrand.

Prólogo.

En los últimos 100 años, y como una consecuencia directa del rápido crecimiento de la sociedad tecnológica actual y de la presión que ésta ejerce sobre los ecosistemas bajo la única e injustificable premisa de la obtención de recursos que permitan mantener el llamado “estado del bienestar”, cerca de una tercera parte de las tierras productivas del planeta desde el punto de vista agrícola se han perdido. Este proceso de deterioro ambiental global continuo es una consecuencia directa de la acción conjunta de varios factores, principalmente de origen antrópico, y que van desde el “boom” poblacional del último cuarto de siglo, con una población mundial en 2011 de aproximadamente 7.000 millones de personas, hasta diferentes procesos de deforestación, contaminación y erosión.

Sin embargo no es hasta mediados del siglo XX cuando se empieza a considerar la importancia global que el suelo tiene para la sociedad tecnológica en la que estamos inmersos, y no sólo en su papel más básico como soporte físico para la obra civil, sino también como responsable directo o indirecto de la mayor parte de los productos de consumo de primera necesidad, o como un sistema altamente complejo clave en todos los procesos de purificación y conservación de agua “útil” a escala mundial, que en la actualidad es menor al 0,7 % del agua total del planeta [1].

Desde que en los años 60 la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) [2] declaró al suelo y a la biomasa que soporta como un bien a proteger y preservar como una estrategia ineludible para asegurar la supervivencia y el bienestar de la humanidad, se han desarrollado diferentes actuaciones a todos los niveles con el objetivo de asegurar la sostenibilidad de este bien tanpreciado y escaso que es el suelo. Como dato a tener en cuenta, en la actualidad apenas el 11 % de la superficie



Figura a. Algunos usos del suelo.

total del planeta sería apta para el uso agrícola. Entre estas estrategias que se han ido desarrollando destacamos:

- Los diferentes estudios realizados por varios Departamentos de la ONU (Organización de las Naciones Unidas) entre 1969 y 1998 sobre la degradación de los suelos africanos y los problemas sociales que este proceso de pérdida de suelo agrícola útil estaba generando. Estos estudios fueron la base del informe presentado en Génova en Octubre de 2002 en la United Nations Conference on Trade and Development [3-5]. En este informe se hacían importantes reflexiones sobre la relación existente entre la degradación del suelo y la recesión económica en este continente.
- La cumbre de Tallinn [6] en Mayo de 1998, en donde la FAO advierte a la UE que la calidad de millones de hectáreas de tierras cultivables en Europa se reduce año tras año debido a la constante pérdida y degradación del suelo haciendo peligrar el actual estado de bienestar en este continente.
- La reunión de Roma en Mayo de 2000 [7] en la que la FAO insta con urgencia a los gobiernos y a la comunidad internacional a combatir la degradación del suelo, la desertificación, la deforestación y la pérdida de la diversidad biológica, como base de una estrategia básica para reducir el hambre y disminuir la pobreza. En esta cumbre se introduce por primera vez y de forma institucional el concepto de la sostenibilidad aplicada a suelos, y que ya había sido presentado en el informe Brundtland en 1987 [8].
- En el Sexto Programa de Acción Comunitaria en Medioambiente [9], en donde se establece la política medioambiental de la UE hasta el año 2012, se resalta la enorme importancia que la sostenibilidad del medioambiente tiene directa e indirectamente en el bienestar social global.



Figura b. El ser humano es responsable directo de la mayor parte de los procesos que abocan a una pérdida de superficie fértil en el planeta.

- El Protocolo de Kyoto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático [10], en donde a los suelos y a su cobertura vegetal se les asigna un papel clave como sumideros naturales de CO₂, haciendo que ocupen un puesto privilegiado como máximo elemento de control para evitar el cambio climático y el calentamiento en el planeta, y que en la actualidad está considerado como el problema ambiental global más importante de la historia de la humanidad.

Por lo tanto se podría concluir que todos aquellos estudios que tengan como objetivo principal el conocer y preservar el suelo asegurando la sostenibilidad de sus recursos, deberían priorizarse como base para asegurar el estado de bienestar que hemos alcanzado en el llamado primer mundo, y que en la actualidad corre serio peligro, y extenderlo al resto del planeta reduciendo la brecha entre países ricos y pobres.

En este trabajo se propone el diseño de un procedimiento experimental en el que se utilizan la microcalorimetría y el análisis térmico como técnicas principales para realizar un seguimiento anual de la actividad microbiana en cuatro suelos de origen y condiciones ambientales similares, sometidos a diferentes procesos de explotación agraria, utilizando a su población microbiana como bioindicador principal de la productividad potencial y estado de salud de los suelos. El estudio se complementa con un análisis de los diferentes parámetros físicos, químicos, biológicos y de ambiente físico que pudiesen tener una influencia destacada en la actividad microbiana de estos suelos. Los cuatro suelos pertenecen a la categoría de Cambisol húmico eutrópico [11-12], y llevan una media de 20 años siendo explotados regularmente como pastizal, explotación agrícola, pinar y eucaliptal, respectivamente. Todas las muestras fueron recogidas en Borreiros (Viveiro-Lugo) [13] en una zona situada a unos 59 m de altitud de coordenadas 61067 UTMX-29T ED-50 longitud y 4832008 UTMX-29T ED-50 latitud; 43°37'51,06''N-7° 3' 21,60''O.

Por lo tanto, el principal objetivo planteado en esta investigación es diseñar un método de trabajo fiable, representativo, eficiente y alternativo para realizar estudios de sostenibilidad en cualquier sistema agroforestal del mundo. Este método nos permitiría la creación de una base de datos que podría utilizarse para estudiar la potencialidad productiva de un suelo, analizar el estado de salud y las medidas correctoras necesarias para su preservación y/o recuperación, cuantificar la capacidad

de los suelos y su biomasa para fijar CO₂, o tomar decisiones rápidas y eficaces sobre fenómenos de ordenación forestal o de desarrollo de infraestructuras [14].

Bibliografía.

- [1] <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/maps/indexesp.stm>
- [2] <http://www.fao.org/>
- [3] http://r0.unctad.org/ecommerce/event_docs/geneva_strategies_issues.pdf
- [4] <http://www.unctad.org/Templates/Startpage.asp?intlItemID=2068&lang=1>
- [5] http://www.fao.org/waicent/ois/press_ne/PRESSSPA/TOC98S.htm
- [6] http://www.fao.org/waicent/ois/press_ne/PRESSSPA/1998/prsp9836.htm
- [7] http://www.fao.org/waicent/ois/press_ne/PRESSSPA/2000/prsp0027.htm
- [8] <http://www.un-documents.net/wced-ocf.htm>
- [9] <http://ec.europa.eu/environment/newprg/index.htm>
- [10] <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpspan.pdf>
- [11] <http://soils.usda.gov/technical/classification/taxonomy/>
- [12] <http://www.fao.org/docrep/W8594E/W8594E00.htm>
- [13] <http://www2.meteogalicia.es/galego/observacion/estacions/estacions.asp?idEst=10162&idprov=1>
- [14] <http://www.iuss.org/>

Capítulo 1. Bases teóricas de la investigación.



Capítulo 1. Bases teóricas de la investigación.

1.1.	Objetivos	13
1.2.	Biocalorimetría y análisis térmico aplicado	16
1.2.1.	Biocalorimetría	16
1.2.2.	Análisis térmico: DSC y TG	18
1.3.	El suelo: biomasa microbiana edáfica	22
1.3.1.	Principales grupos de microorganismos	24
1.3.2.	Fundamentos de la nutrición microbiana	27
1.3.3.	Crecimiento microbiano: bases termodinámicas y cinéticas	29
1.3.4.	Algunas notas sobre el estudio microcalorimétrico de la actividad microbiana del suelo	36
1.4.	Bibliografía	39

1.1. Objetivos.

Tal y como se adelantó anteriormente, en este trabajo de investigación se propone el desarrollo de un método de trabajo rápido, eficaz, representativo y alternativo a los procedimientos experimentales actuales más lentos y menos sensibles que nos permita la realización de estudios de seguimiento del crecimiento microbiano en un medio tan complejo como es el suelo [1-4], y que pueda ser utilizado en cualquier tipo de suelo y en cualquier parte del mundo, siempre y cuando se cumplan las premisas diseñadas en este trabajo de investigación.

Este procedimiento sería la clave a la hora de diagnosticar el estado de salud de un suelo cualquiera, y por lo tanto decisivo a la hora de diseñar procesos de explotación racional y sostenible de los recursos presentes en el mismo, en la implementación de procesos de protección, preservación, regeneración y recuperación de los suelos frente a agresiones naturales o de origen antrópico tales como procesos erosivos, incendios forestales o posibles episodios de contaminación, o en estudios relacionados con la selección de mejores escenarios para maximizar la función de sumidero del suelo a la hora de la captación de CO₂. Para ello se utilizan como herramientas principales de trabajo la microcalorimetría [5-11] y el análisis térmico [12-22], complementadas con otras técnicas de análisis global de los principales parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo, y de los factores ambientales [23], que tienen una influencia crucial en todos los procesos que se generan en el suelo.

La base metodológica teórica sobre la que se asienta el diseño del proceso experimental utilizado en esta investigación se basa en 6 principios básicos:

1. **La calidad o estado de “salud” de un suelo**, entendiéndola como la integración de todos los procesos químicos, físicos y biológicos que se dan en el mismo en un tiempo determinado y bajo unas condiciones concretas de explotación agroforestal (Figura 1) que nos permite definir la utilidad del suelo en una escala amplia de tiempo. Es la responsable directa tanto de su capacidad productiva sostenible como de su acción depuradora global.



Figura 1. En la productividad y sostenibilidad de los suelos se deben tener en cuenta multitud de parámetros físicos, químicos, biológicos y ambientales.

2. **La productividad o potencialidad productiva** de los suelos depende directamente de parámetros claves comunes a todos los tipos de los suelos. Dentro de estos parámetros destacamos:
 - a) La fase viva, es decir, la cantidad y diversidad de sus microorganismos.
 - b) La fertilidad física o capacidad para suministrar a los vegetales los nutrientes necesarios en forma, tiempo y proporción adecuada.
 - c) La fertilidad propia, o la capacidad para asegurar a los vegetales agua, oxígeno y calor para un crecimiento adecuado a medio y largo plazo.
3. **La fase viva**, o microorganismos presentes en el suelo, es la responsable final para asegurar esta productividad potencial.
4. Estos microorganismos son bioindicadores reales de **la calidad y estado de salud del suelo**. Esto hace que el estrés originado por procesos de explotación agresivos y sin medidas correctoras reduzca tanto la cantidad como la diversidad de los microorganismos, provocando una disminución de la futura productividad del suelo, e incluso pudiendo llegar a su pérdida total. Esta pérdida de riqueza afecta a varios campos:
 - A la productividad agrícola, por su relevancia económica para una parte de la sociedad.
 - A la reducción alarmante de la capacidad purificadora propia del suelo, y que limita la utilización de un recurso estratégico como el agua.
 - A la pérdida de la capacidad del suelo para soportar el crecimiento de formaciones vegetales de diferente porte, clave en los ciclos de fijación de CO₂.
 - A fenómenos de esparcimiento y ocio social global, que habitualmente no se contemplan y sin embargo en ocasiones suponen la pérdida de un patrimonio natural irrecuperable.
5. **La evolución de la fase de vida del suelo**, y por lo tanto el estudio de la actividad microbiana, puede ser cuantificada y monitorizada mediante la técnica microcalorimétrica [24, 25] de forma eficaz y rápida.

6. **La actividad microbiana**, aunque dependiente de parámetros físicos, químicos y biológicos, está también fuertemente influenciada por factores ambientales, especialmente la humedad y la temperatura [26].

Esta última premisa hace necesaria la perfecta caracterización de los suelos desde todos los puntos de vista, de los parámetros ambientales más influyentes, y de las características del medio circundante (Figura 2). En este estudio se determinan las siguientes propiedades:

- **Físicas:** temperatura, humedad, textura, densidad, porosidad, plasticidad, adherencia, conductividad hidráulica, estructura y capacidad de campo.
- **Químicas:** composición elemental (C, H, O, N y S) y presencia de diferentes elementos químicos de interés (P, N, K, Ca, Fe...).
- **Biológicas:** contenido en materia orgánica y número más probable de microorganismos.
- **Medioambientales:** evapotranspiración (potencial y potencial residual), disponibilidad hídrica, temperatura, precipitación, radiación solar, viento, humedad e intensidades bioclimáticas.
- **Rasgos físicos medioambientales:** tipo de vegetación, substrato geológico y pendiente.

Con la intención de tener una visión global del comportamiento del suelo y la influencia que los diferentes parámetros analizados tienen sobre su actividad microbiana, la toma de muestras se realizó a lo largo del año utilizando como patrón temporal el final de cada periodo estacional. Este planteamiento tiene especial importancia en el estudio de los suelos gallegos, debido a que sus condiciones de ambiente físico son extremadamente variables a lo largo del año.



Figura 2. La actividad biológica del suelo, y por lo tanto su capacidad productiva, depende de la interrelación de multitud de parámetros.

1.2. Biocalorimetría y análisis térmico aplicado.

1.2.1. Biocalorimetría.

Desde que Lavoisier y Laplace [27] realizaron el primer experimento sobre un sistema vivo a mediados del siglo XVIII utilizando un calorímetro de hielo (Figura 3) hasta la actualidad, la calorimetría ha experimentado enormes progresos. Estos avances científicos y tecnológicos de los últimos años, especialmente gracias al avance de la electrónica, no sólo permitieron el desarrollo de diferentes técnicas calorimétricas y de análisis térmico, sino también la aparición y la mejora de diferentes métodos experimentales complementarios que posibilitaron la realización de numerosas determinaciones calorimétricas en sistemas celulares, especialmente en microorganismos [28-33]. Esta utilidad como procedimiento analítico y de control para la obtención de datos termodinámicos de procesos biológicos, quedó sobradamente refrendada en los últimos años por los estudios realizados por H. Prat [34], W. W. Forrest [10], J. P. Belaich [9], o I. Lamprecht [6].



Figura 3. El diseño y construcción del calorímetro de hielo por Lavoisier y Laplace en 1784 marca el inicio de los estudios de en biocalorimetría.

La mayoría de los procesos físicos, químicos o biológicos están acompañados por una cesión o absorción de calor. La cantidad de calor intercambiada en cualquier proceso está relacionada con la extensión del mismo, a la vez que ésta es proporcional a la velocidad a la que dicho proceso transcurre, quedando así clara la utilidad e importancia de la calorimetría como herramienta analítica en los procesos termodinámicos. Las medidas calorimétricas permiten determinar tanto las magnitudes termodinámicas asociadas a muchos procesos bioquímicos como solvataciones, cambios conformacionales en proteínas o interacciones antígeno-anticuerpo, como la cuantificación de parámetros cinéticos de numerosos procesos de interés.

Los estudios y aplicaciones de la calorimetría actual abarcan desde determinaciones en sistemas de complejidad variable como el agua, moléculas bioquímicas, biopolímeros, células vivas, tejidos, microorganismos, hasta estudios en plantas o animales, entendiendo a éstos como los organismos vivos de máxima complejidad.

Esta versatilidad ha permitido que la calorimetría y el análisis térmico se hayan hecho un hueco muy importante en estudios muy diversos. En la actualidad, el empleo de la microcalorimetría se ha extendido a campos de investigación tan diversos como la medicina, la microbiología, la biotecnología, la farmacología o el medioambiente.

Tal y como se mencionó anteriormente, todos los procesos químicos, físicos o biológicos que tienen lugar en la naturaleza van acompañados de un intercambio de calor. Por esta razón, el calorímetro se convierte en una herramienta de trabajo tremendamente útil y eficaz midiendo el flujo calorífico, es decir, la cantidad de calor producida, o consumida, por unidad de tiempo durante un proceso.

Este flujo calorífico puede utilizarse como una medida de la velocidad global del proceso que experimenta la muestra. La integración con respecto al tiempo del flujo calorífico permite calcular el calor total o energía cedida o absorbida durante un periodo de tiempo determinado, y por lo tanto, esta energía es una medida de la extensión del proceso en que ha participado la muestra sometida a estudio.

De forma muy general podemos decir que los calorímetros permiten realizar cálculos directos de calor Q y de velocidad de producción de calor o potencia térmica,

$P_t = \frac{dQ}{dt}$, donde t es el tiempo. La potencia térmica producida en un proceso es proporcional a la velocidad a que tiene lugar el mismo, por lo tanto, los calorímetros son muy adecuados y eficaces para la obtención de parámetros cinéticos, y pueden ser utilizados para estudiar procesos en los que intervienen sistemas vivos.

Los calorímetros también nos permiten realizar medidas de capacidad calorífica, definidas como $C_c = \frac{dQ}{dT}$, donde T es la temperatura.

El uso de la técnica microcalorimétrica, y no sólo su confirmación como útil para el desarrollo de estos estudios sino como una alternativa a los métodos convencionales para el estudio del metabolismo y crecimiento bacterianos, ha sido sobradamente demostrado en

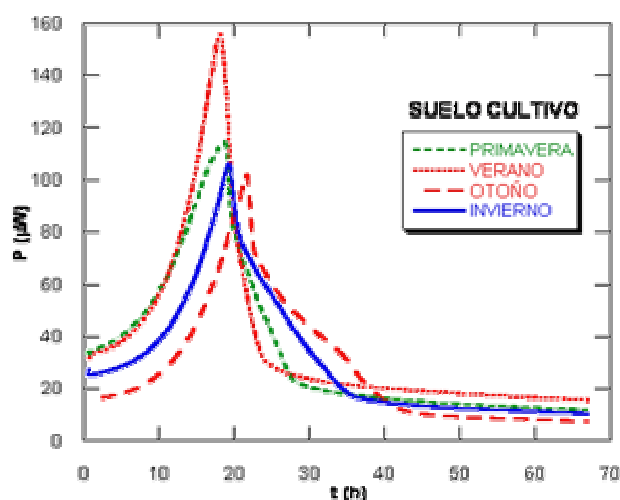


Figura 4. A través de termogramas como éste se puede realizar un seguimiento del comportamiento de la población microbiana de un suelo en función de la potencia térmica generada por unidad de tiempo.

numerosas investigaciones a lo largo de los últimos 30 años [35-37], comparando los resultados obtenidos mediante microcalorimetría con otras técnicas tradicionales suficientemente contrastadas y reconocidas por la comunidad científica como la fumigación [38, 39].

Además, la utilización de la microcalorimetría permite la continua monitorización de la actividad de la fase viva de los suelos durante prolongados periodos de tiempo (Figura 4) sin generar distorsiones no deseadas en el sistema en estudio.

La principal ventaja con la que cuenta la microcalorimetría para el control de la actividad metabólica de la biomasa microbiana en suelos, es que el calor producido en los diferentes procesos que se dan en los suelos depende únicamente de los estados energéticos inicial y final del sistema, siendo este parámetro independiente del tipo de suelo o microorganismo y de la evolución de su actividad.

De forma general las medidas calorimétricas han sido realizadas mediante el método de “ampolla cerrada”. Lógicamente en este método las condiciones ambientales en el interior de la ampolla varían a medida que se consume O_2 y se produce CO_2 como consecuencia del metabolismo microbiano. Sin embargo, este balance de gases fundamental para la fase viva del suelo, se estudió en diferentes investigaciones concluyendo que durante las experiencias microcalorimétricas, este fenómeno no afecta a las medidas realizadas [3], y que el factor limitante del crecimiento más importante para los microorganismos es el alimento disponible.

Transición	
Cristalización	
Fusión	
Transición vítrea	
Polimorfismos	
Desnaturalización proteínas	
Transición Curie	
Oxidación	
Curado	
Vaporización, Sublimación	
Vulcanización	
Transiciones fase líquido-líquido	
Combustión	
Etc., Etc.,	

Tabla 1. Reconstrucción de las transiciones más características observables mediante DSC.

1.2.2. Análisis térmico: DSC y TG.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) tanto en su modo de trabajo isotérmico como dinámico, ha sido ampliamente utilizada en el estudio para la identificación y la cinética de los procesos de polimerización (curado, transiciones

vítreas, fusión, o grado de cristalinidad) [40, 41, 42]. Sin embargo, también puede aplicarse a numerosos estudios de cinética de reacción, estudio de polimorfismos, estudios de transición de primer orden como fusiones, solidificaciones o cristalizaciones, determinación de cristalinidad, límite del contenido en agua, estudios de oxidaciones, determinación de purezas, medida de capacidad calorífica o medida de entalpía.

Desde hace varios años también se está aplicando la técnica DSC al análisis del estado de los suelos. Se basa principalmente en el estudio de la evolución de su materia orgánica [12-14, 16-18, 20-21] y los cambios químicos que ésta sufre. Con esta técnica, se puede evaluar el impacto de los incendios forestales en la biomasa (con el fin de determinar los procesos más adecuados de recuperación de ecosistemas), se pueden determinar técnicas alternativas de explotación agroforestal menos agresivas y sostenibles, o también se puede usar como herramienta para valorar el impacto de los fertilizantes, para poder aplicar tratamientos alternativos más eficaces y respetuosos con el medioambiente.

En el estudio de polímeros, y más concretamente de un biopolímero como el suelo, los parámetros más restrictivos son la estabilidad química y la estructural, y para ello es importante conocer las temperaturas a las cuales ocurren las transiciones físicas y precisar la entalpía de la reacción química.

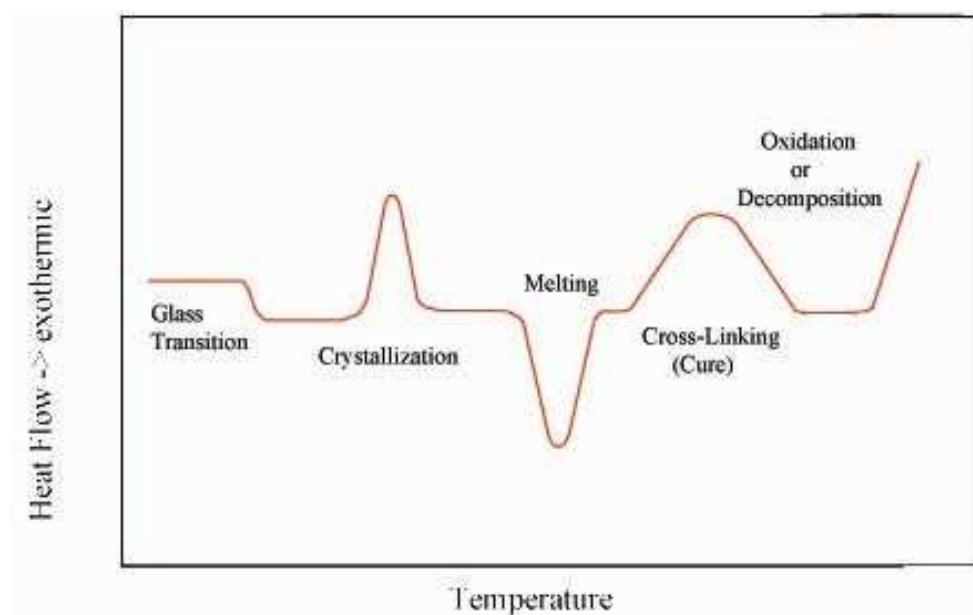


Figura 5. Simulación de un termograma de DSC en donde se pueden observar diferentes tipos de transiciones y fenómenos típicos.

Cuando un material experimenta un cambio de estado o una reacción química, tiene lugar un intercambio de calor. Los modernos calorímetros diferenciales de barrido están diseñados para la determinación de las entalpías en estos procesos, midiendo el flujo calorífico que se requiere para mantener la muestra del material y la de referencia a una misma temperatura. Para ello utilizan una velocidad de calentamiento programada para barrer un rango apropiado de temperaturas y como muestra de referencia se toma aquella que no experimenta ningún tipo de cambio estructural o de reacción aparente; es decir, permanece inerte.

Este tipo de calorímetros se suelen utilizar para medir la capacidad calorífica, la emisividad térmica y la pureza de muestras sólidas, además de facilitar información sobre los diagramas de fase y proporcionar datos cinéticos.

La termogravimetría (TG) es una rama del análisis térmico que estudia el cambio de masa de una muestra como función del tiempo (método isoterma), o como función de la temperatura (método dinámico) [40]. Dicho cambio puede ser debido a reacciones químicas, procesos de descomposición, transiciones de Curie u oxidaciones [43]. Por ello esta técnica es utilizada para caracterizar la descomposición y la estabilidad térmica de materiales bajo determinadas condiciones y para examinar las cinéticas de los procesos físico-químicos que ocurren en la muestra.

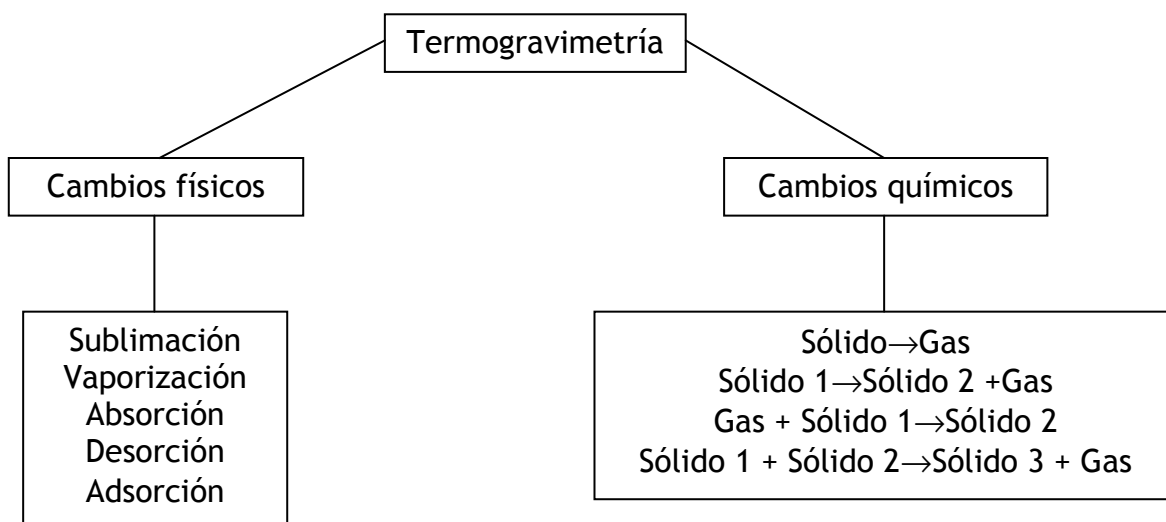


Figura 6. Esquema de los principales procesos en los que se producen cambios de masa detectables en termogravimetría.

Aunque no todos los acontecimientos térmicos llevan asociado un cambio en la masa de la muestra (es el caso de una cristalización o una transición vítrea), existe un gran número de procesos en los que sí se experimenta una pérdida considerable de masa:

absorción, oxidación o reducción. Este cambio de masa depende en gran medida de las condiciones experimentales empleadas como la masa, volumen y estado físico de la muestra, la forma y naturaleza del horno, la presión atmosférica o la velocidad de calentamiento. Por tanto, es esencial que las condiciones experimentales sean prefijadas y mantenidas a lo largo de toda la investigación para garantizar la reproducibilidad del método.

Las curvas termogravimétricas, por lo general, representan el cambio de masa frente al tiempo o a la temperatura, dependiendo del tipo de ensayo. La reacción se caracteriza por dos temperaturas, T_i y T_f , que se denominan temperaturas de descomposición inicial y final, respectivamente. Sus valores no tienen un significado absoluto ni tampoco el intervalo (T_i, T_f) , ya que dependen de las condiciones de trabajo.

El análisis térmico, y la posterior interpretación de los termogramas, es una opción adecuada para la caracterización de las fracciones lábiles y estables de la materia orgánica del suelo. Una de las aplicaciones más importantes que puede tener el uso del análisis térmico al estudio los suelos es la comprensión del papel que tienen la composición y estructura de la materia orgánica presente en el mismo sobre la dinámica del carbono del suelo [16, 44]. Este tipo de investigaciones serían de interés para poder tener una visión más global del proceso de emisión de CO_2 desde la superficie del suelo a través de la degradación de la materia orgánica del suelo, como parte importante en en el ciclo global del carbono [45] y, por lo tanto, en el estudio del calentamiento global y en el cambio climático. El Protocolo de Kyoto sugiere que el secuestro del carbono y su almacenamiento como CO_2 en el suelo es una estrategia para mitigar el calentamiento global [46].

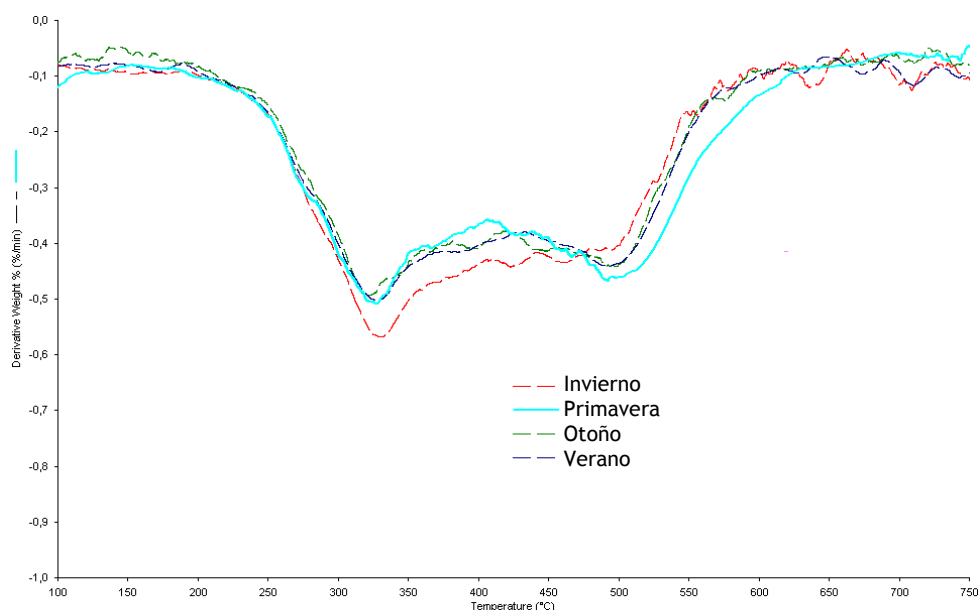


Figura 7. Curvas DTG obtenidas para un suelo de cultivo a lo largo de las diferentes estaciones del año.

1.3. El suelo: biomasa microbiana edáfica.

La definición clásica de suelo como la parte más superficial de la litosfera ha ido perdiendo protagonismo en los últimos años. Hoy en día el suelo se ve como algo vivo, como un sistema altamente heterogéneo y disperso, constituido por gran cantidad de partículas sólidas, con una gran área superficial por unidad de volumen de suelo o fase sólida, con una cantidad variable de poros llenos de aire o fase gaseosa, y una disolución acuosa o fase líquida (Figura 8) [47, 48].



Figura 8. Constituyentes principales del suelo.

De forma más académica, el suelo está compuesto por:

- **Materia sólida** formada por diferentes minerales (45 %) y materia orgánica (5 %) en diferentes etapas de descomposición, y encargada de crear el esqueleto del suelo, servir como fuente de nutrientes y agua, y ser la responsable de las propiedades físicas del mismo, por lo que es la más estable de las tres.

- **Disolución acuosa (20-30%) y aire (20-30%).** Ambas fases están en constante renovación por diferentes mecanismos: evaporación, absorción por parte de las plantas, reposición por lluvia o riego, difusión y desplazamiento de gases principalmente.

De forma más global y cercana a la realidad, el suelo se puede definir como un medio trifásico altamente complejo formado por una interfase de aire en torno a la raíz, una interfase líquido-gas rodeando a ésta última y una interfase sólido-gas rodeando a ambas, en el que actúan simultáneamente numerosos procesos físicos, químicos y biológicos que mejoran o empobrecen la condición del suelo y sus funciones como consecuencia de las variaciones que sufren sus propiedades físicas. Estas fases, muy dinámicas y en continua evolución, están interrelacionadas entre sí y se ven afectadas por las condiciones microclimáticas propias del ambiente, del hombre y del propio suelo. Este proceso evolutivo continuo se conoce como edafogénesis.

La biodiversidad del suelo es un reflejo de la enorme variabilidad de organismos vivos que éste alberga y su enorme capacidad productiva (Figura 9). Dentro de estos organismos se incluyen los microorganismos, muy numerosos y no visibles al ojo humano, la mesofauna y la macrofauna, mucho más conocida y estudiada tradicionalmente. Como consecuencia directa de la relación simbiótica e interacción con los demás componentes del suelo, las raíces de las plantas también pueden considerarse como organismos propios del suelo y responsables directos de muchos procesos de evolución en los mismos.



Figura 9. Organismos del suelo clasificados según su tamaño: microfauna (entre 20 y 200 μm), mesofauna (entre 200 μm y 10 mm) y macrofauna (10 mm o más).

Todos estos organismos interactúan entre sí, con las diversas plantas y animales del ecosistema, y con diferentes parámetros de ambiente físico formando un complejo sistema de actividad biológica y que aporta una serie de servicios fundamentales para el sustento de todos los ecosistemas.

Este sistema dinámico llamado suelo, y muy especialmente los microorganismos presentes en él, son claves para los ciclos de los elementos nutrientes ya que regulan la

dinámica de la materia orgánica del suelo, la retención del carbono y la emisión de gases de efecto invernadero; modifican la estructura del suelo y los regímenes del agua, mejorando la cantidad y eficacia de la adquisición de nutrientes de la vegetación y la salud de las plantas. Además, el suelo tiene una función imprescindible que es la de gran almacén reciclador y generador de riqueza. El suelo no sólo es decisivo para el funcionamiento de los ecosistemas naturales, sino que también constituye un importante recurso para la gestión sostenible de los sistemas agrícolas y es la base del bienestar de la sociedad tecnológica actual.

1.3.1. Principales grupos de microorganismos.

Desde un punto de vista biológico, el suelo puede ser considerado como un medio vivo y altamente heterogéneo, y en el que se producen intercambios continuos de materia y energía entre colonias de microorganismos que crecen y mueren sucesivamente al consumir diferentes nutrientes que ellos mismos descomponen para que sea posible el complejo ciclo de la vida.

Esta biomasa microbiana edáfica está constituida por aquellos organismos vivos menores de $5 \times 10^{-3} \mu\text{m}$, y que incluye arqueas, bacterias, actinomicetos, hongos, algas, protozoos y microfauna edáfica [49]. Algunos autores incluyen en los últimos años también a los virus. Esta biomasa representa, dependiendo de la abundancia y tamaño de cada uno de los grupos que la constituyen, entre el 0.3 y 6.9 % del carbono total del suelo [50].

Y aunque los organismos predominantes son las bacterias y los hongos, hacemos una breve referencia a los principales grupos de seres vivos que interactúan en el suelo (Figura 10):

- **Las arqueas**, que aunque fueron descubiertas originariamente en ambientes extremos, se han hallado

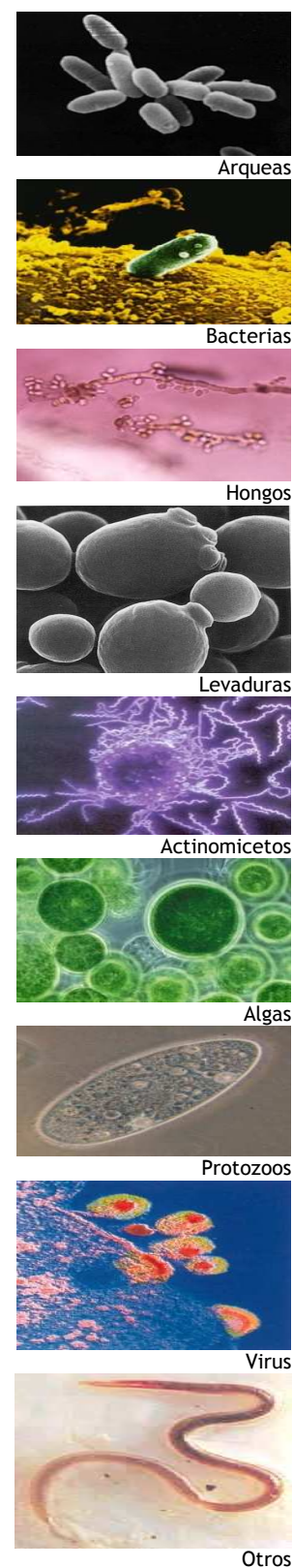


Figura 10. Principales grupos de organismos presentes en el suelo.

en todo tipo de hábitats y podrían constituir hasta el 20 % de la biomasa microbiana oceánica pudiendo ser uno de los más abundantes grupos de organismos en el planeta. Algunas especies son hipertermófilas y pueden sobrevivir y prosperar a temperaturas ligeramente superiores a los 100 °C. Se encuentran en géiseres, fuentes hidrotermales y pozos de petróleo. Otras extremófilas se encuentran en agua hiper-salina, ácida o alcalina. Sin embargo, otras son mesófilas o psicrófilas y prosperan en ambientes tales como marismas, aguas residuales, agua de mar y el suelo. Las metanógenas se encuentran en el tracto digestivo de animales tales como rumiantes, termitas y seres humanos. No se conocen patógenos para los seres humanos, aunque se ha propuesto alguna relación entre los metanógenos y los trastornos periodontales humanos.

- **Las bacterias**, los organismos más pequeños y numerosos de entre los microorganismos que viven libres en el suelo. Su número varía entre 10^5 y 10^9 células viables por gramo de suelo, y su principal papel en el suelo radica en su diversidad metabólica, muy superior a la del resto de los microorganismos, que les permite multiplicarse rápidamente y descomponer sustratos muy variados, tanto en condiciones aerobias como anaerobias [51]. Las bacterias con mayor presencia comprenden los órdenes Pseudomonales y Eubacteriales, en los que se encuentran los principales géneros que viven en el suelo [52]. En función de diferentes parámetros su presencia en el suelo puede variar entre los 7 kg y las 7 t ha⁻¹.
- **Los hongos**, cuya presencia en el suelo oscila entre 10^2 y 10^5 propágulos por gramo de suelo [53-55], aumentando su número en suelos ácidos [56] como los que son motivo de este estudio, y cuya función principal es la degradación de la materia orgánica carbonada [38], especialmente en sus etapas iniciales. Los géneros más comunes en los suelos son: *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cylindrocarpon*, *Mucor*, *Penicillium* y *Cladosporium* [57]. Su cantidad varía entre las 0.12-1.5 t ha⁻¹.
- **Levaduras** u hongos microscópicos unicelulares que son importantes por su capacidad para realizar la fermentación de hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.
- **Los actinomicetes**, con densidades que oscilan entre 10^3 y 10^8 células viables por gramo de suelo [58], son capaces de sintetizar sustancias probióticas, antibióticas o tóxicas [59], que les permiten intervenir en la degradación y

transformación de la materia orgánica incluso cuando se trata de sustancias que difícilmente son descompuestas por otros grupos microbianos [60]. Se estima su presencia entre los 0.2-700 kg ha⁻¹.

- **Las algas**, cuyas densidades por gramo de suelo [61] oscilan desde varios cientos a varios millones. La importancia de las algas se basa en un metabolismo casi exclusivamente fotoautótrofo, y su capacidad de actuar como colonizadores primarios en la formación y recuperación de suelos [62, 63]. Oscilan entre los 20 kg y 1 t ha⁻¹.
- En los horizontes orgánicos de los suelos también podemos encontrar un gran número de **protozoos** [58-64] en cantidades que van desde los 10² a 10⁶ por gramo de suelo. Aunque prefieren un hábitat con elevada humedad, pueden sobrevivir a periodos de sequía mediante un proceso de enquistamiento. Debido a su papel de predadores bacterianos, los protozoos ejercen un control efectivo en la abundancia de bacterias y, por lo tanto afectan indirectamente a una gran variedad de procesos del suelo [65, 66]. Su presencia varía entre 1 y 300 kg ha⁻¹.
- En los últimos años diferentes autores incluyen dentro de los microorganismos de los suelos a los **virus** [67, 68]. Aunque han recibido muy poca atención debido a su pequeño tamaño y su escasa presencia, tienen enorme importancia como parásitos intracelulares estrictos de plantas, animales u otros microorganismos del suelo [56] y, mediante la producción de lisis en estos últimos, actúan como controladores de poblaciones microbianas [69].

Además de estos microorganismos, la microfauna edáfica puede tener una presencia muy importante dependiendo del tipo de suelo. Dentro de este grupo de organismos se incluyen nematodos, oligoquetos y artrópodos menores de 5 x 10³ μm [49], que se encuentran distribuidos en el suelo con frecuencias muy variables. Su principal papel es su contribución a mejorar las condiciones y propiedades del suelo, así como controlar la densidad de otras poblaciones microbianas [53].

La distribución de los microorganismos en el suelo está determinada en gran medida por la presencia de un sustrato con nutrición adecuada y equilibrada, que se encuentra principalmente en condiciones de abundancia de materia orgánica superficial en diferentes estados de degradación.

Tal y como comentamos anteriormente, existen una serie de factores biológicos y no biológicos en continua interacción, que ejercen una importante acción sobre la evolución de la población microbiana del suelo. Todos estos parámetros, que están en

continua evolución, determinan tanto su distribución como la densidad de los componentes de la biomasa edáfica. Entre estos factores podemos destacar por su importancia la aireación, la humedad, la temperatura, el pH, la luminosidad, los minerales, la materia orgánica, la profundidad del suelo, o la vegetación que lo cubre.

Debido a la enorme influencia que sobre la fase viva del suelo tienen todos estos parámetros, comentaremos brevemente los más importantes:

- La **aireación del suelo** condiciona la existencia, el desarrollo y la distribución de microorganismos aerobios, anaerobios o facultativos.
- La **humedad del suelo** es uno de los parámetros que altera significativamente la población, actividad y biomasa microbiana. De forma general, se ha observado que la desecación del medio edáfico provoca la muerte de numerosos microorganismos y que una posterior rehumectación estimula enormemente su desarrollo.
- La **temperatura** es de los factores abióticos que más influye en la supervivencia, crecimiento, distribución en el perfil y actividad de los microorganismos [49-70], marcando su clasificación en tres grandes categorías: psicrófilos, mesófilos o termófilos. Por lo tanto los requerimientos térmicos del suelo determinan la composición y por consiguiente la biomasa de la microbiota edáfica [71].
- El **pH** como elemento generador de medios neutros o ligeramente alcalinos que favorecen el crecimiento de bacterias, actinomicetos y algas [72], y medios ácidos, que por el contrario estimulan el desarrollo de hongos.
- La **luz**, factor determinante en la composición de la microbiota edáfica, actúa como fuente de energía para la fotosíntesis, y por otra parte, ejerce un efecto bactericida sobre los microorganismos no fotosintéticos. Esta acción diferenciadora de la luz controla la densidad y distribución de los mismos obligándolos a desplazarse a lugares más profundos del suelo dejando así en la superficie principalmente a las algas y a las bacterias fotosintéticas [72].

1.3.2. Fundamentos de la nutrición microbiana.

Los microorganismos deben de tomar del medio que los rodea todas las sustancias que necesitan para su correcto crecimiento. Estas sustancias llamadas comúnmente nutrientes son utilizadas por los microorganismos para:

- Proporcionar los materiales necesarios para la síntesis del protoplasma.
- Suministrar la energía necesaria para su crecimiento y para las reacciones biosintéticas.
- Actuar como aceptores de electrones liberados en las diferentes reacciones metabólicas.

Por lo tanto para que un medio de cultivo sea adecuado no sólo debe de contener los nutrientes necesarios, sino que éstos deben encontrarse en cantidades apropiadas a los requerimientos específicos de cada tipo de microorganismos objeto de estudio. Sin embargo, y dada la enorme variabilidad de microorganismos presentes en el suelo, sería imposible describir cada uno de los diferentes tipos de cultivo adecuados, por lo que en nuestra investigación utilizaremos uno generalista y cuya composición se recoge en la Tabla 3 del Capítulo II.

Así, y en base a sus exigencias de nutrición, se divide tradicionalmente a los microorganismos en:

- **Heterótrofos:** aquellos que obtienen toda su energía y requerimientos nutritivos de otros materiales orgánicos. Entre las fuentes de energía empleadas por la población heterótrofa del suelo, se encuentran la celulosa, la hemicelulosa, la lignina, las sustancias pécticas, los azúcares, las proteínas, los aminoácidos y los ácidos orgánicos. La conversión de estos sustratos a productos más oxidados libera energía, parte de la cual es aprovechada por los microorganismos para sintetizar los componentes protoplasmáticos.
- **Autótrofos:** aquellos que derivan su carbono del dióxido de carbono de la atmósfera y su energía del sol o de procesos de oxidación, siendo así independientes de materiales orgánicos.

Sin embargo, hoy en día se sabe que muchos organismos heterótrofos obtienen su energía del sol y que algunos organismos autotróficos necesitan de algunos factores de crecimiento orgánicos específicos. Por estas razones, se clasifica a los organismos en cuatro categorías principales, basadas en sus fuentes de carbono y energía:

- **Fotoautótrofos,** contienen clorofila y utilizan la luz como fuente de energía y el CO₂ como fuente principal de carbono.
- **Fotoheterótrofos,** utilizan la luz como fuente de energía y derivan gran parte de su carbono de compuestos orgánicos.
- **Quimioautótrofos,** derivan su energía de la oxidación de compuestos inorgánicos y utilizan CO₂ como fuente principal de carbono.

- **Quimioheterótrofos**, emplean compuestos orgánicos tanto como fuente de energía como de carbono.

Frecuentemente un organismo es incapaz de sintetizar por sí mismo uno o más de los compuestos que forman parte de su estructura. Por ello es necesario proporcionarle a estos microorganismos los materiales que necesitan. Estos materiales que se denominan factores de crecimiento o micronutrientes, son moléculas orgánicas necesarias sólo en pequeñas cantidades para que los microorganismos puedan crecer. Los factores de crecimiento no tienen porqué ser esenciales, es decir, muchas especies son estimuladas por la presencia de estos factores pero pueden crecer, aunque más despacio, sin ellos.

Los microorganismos más sencillos desde el punto de vista nutricional son los quimioautótrofos, capaces de sintetizar todos sus componentes protoplasmáticos a partir de sales inorgánicas, CO_2 , O_2 y H_2O . Las bacterias heterótrofas, actinomicetes y hongos necesitan para ello una fuente de carbono más compleja, generalmente un azúcar o un ácido orgánico.

Otra división de los microorganismos del suelo es la basada en que su desarrollo sea a expensas de un sustrato exógeno que les permite crecer rápidamente y una vez agotado éste reducen la actividad metabólica (**zimógenos**), y los **no zimógenos**, que son aquellos que se desarrollan a expensas de la materia orgánica del suelo, creciendo y dividiéndose a través de períodos largos [73].

1.3.3. Crecimiento microbiano: bases termodinámicas y cinéticas.

En cualquier sistema biológico entendemos por crecimiento el aumento ordenado de todos sus componentes químicos. Así, un aumento de masa por sí sólo podría no indicar un crecimiento real, ya que las células pueden estar incrementando únicamente su contenido de productos de reserva.

Se dice entonces que un sistema de microorganismos se encuentra en un estado de crecimiento equilibrado cuando se halla en un medio adecuado al que se ha adaptado perfectamente. Durante un periodo de crecimiento equilibrado se genera una duplicación de la biomasa, acompañada de una duplicación de todas las demás propiedades cuantificables de la población, y entre las que podemos destacar las proteínas, el ADN, el ARN o el agua intracelular. Por lo tanto los cultivos en crecimiento equilibrado mantienen constante su composición química.

El hecho de que un sistema biológico se encuentre en estado de crecimiento equilibrado simplifica enormemente la tarea de determinar la velocidad de crecimiento del cultivo. En este caso la velocidad de crecimiento de todos los componentes de la población debe ser la misma, por lo que la determinación de cualquier componente basta para determinar la velocidad de crecimiento.

De forma general, el estudio de un cultivo bacteriano en crecimiento equilibrado puede ser comparado satisfactoriamente con una reacción química autocatalítica de primer orden, o lo que es lo mismo, que la velocidad de aumento de bacterias en un tiempo dado es proporcional al número o masa de bacterias presentes en ese tiempo, tal y como se expresa en la siguiente relación:

$$v(t) = \mu \cdot N(t)$$

Donde v es la velocidad de aumento de las células en un instante dado, μ la constante de proporcionalidad, que es un índice de la velocidad de crecimiento denominado constante de velocidad del crecimiento microbiano, y N el número de células en dicho instante.

Así, si N es el número total de células en un instante t , podemos escribir $\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N$, lo que es aplicable a cualquier propiedad referida al cultivo estudiado.

El crecimiento de las poblaciones bacterianas responde generalmente en su periodo principal a un crecimiento de tipo exponencial, (Figura 11), o fase exponencial, generalmente limitado o bien por el agotamiento de los nutrientes disponibles o bien por la acumulación de productos tóxicos del metabolismo. Como consecuencia de estos procesos, la velocidad de crecimiento disminuye y el crecimiento llega a detenerse. En este punto se dice que el cultivo está en fase estacionaria. La transición entre la fase exponencial y la estacionaria implica un periodo de crecimiento desequilibrado

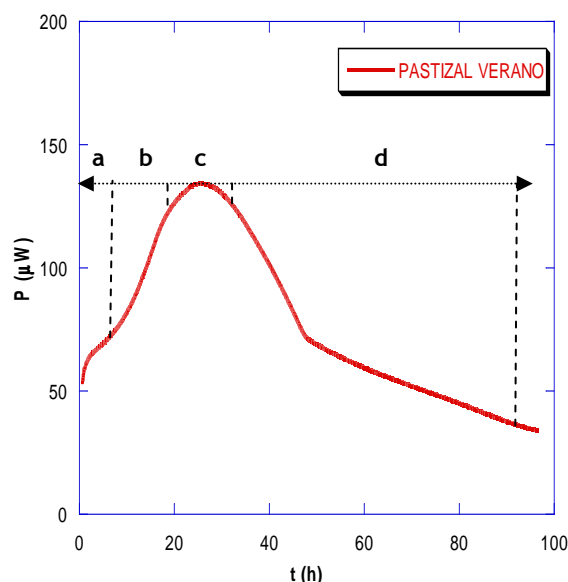


Figura 11. Gráfica que representa un crecimiento bacteriano experimental tipo con sus diferentes fases: latencia (a), exponencial (b), estacionaria (c) y de muerte (d).

durante el cual los diversos componentes celulares son sintetizados a diferentes velocidades, y debido a lo cual las células tienen una composición química distinta de la que poseen en la fase exponencial.

Las células transferidas de un cultivo en fase estacionaria a un medio fresco de igual composición experimentan un cambio de composición química antes de ser capaces de reiniciar el crecimiento. Este período de ajuste, llamado fase de latencia, tiene una duración variable y está relacionada directamente con la duración de la fase estacionaria.

En la naturaleza, y debido a la heterogeneidad de las poblaciones microbianas, no es frecuente encontrar bacterias en fase de crecimiento exponencial. Sin embargo, la adición de un sustrato puede producir una transformación y estimular el crecimiento de bacterias en el suelo.

La Termodinámica, aunque permite establecer relaciones entre materia y energía que ayudan a predecir la dirección en que tiene lugar el resultado final de las reacciones físicas y/o químicas, no es capaz de predecir la trayectoria o rapidez de las reacciones, ya que en estas relaciones no aparece el tiempo.

Hasta bien entrado el siglo XX, muchos investigadores ponían en duda la aplicabilidad de las Leyes de la Termodinámica a los sistemas biológicos. Las principales razones esgrimidas se debían por una parte a la gran complejidad de estos sistemas, y por otra a la capacidad atribuida a algunas células de producir un descenso neto de la entropía [74].

De forma paralela y en contra de esta corriente, Winzler y Baumberger [74] estimaron al igual que otros muchos investigadores, que tanto el Primer como el Segundo principio de la Termodinámica se cumplían “estrictamente” dentro de las células de una forma análoga a como lo hacían en sistemas simples. Para ello se basaban en el hecho de que las células se comportaban como sistemas abiertos en los que se produce de forma continua un intercambio de materia y energía entre ellas y el medio que las rodea.

Para la aplicación de la Termodinámica a sistemas tan complejos como los sistemas biológicos se necesitan complementar los conocimientos de la Termodinámica Clásica con los de la Termodinámica de Procesos Irreversibles. El tratamiento termodinámico de sistemas vivos requiere una clara definición de los límites del sistema, así como de los estados inicial y final de los procesos metabólicos considerados, imprescindibles para la evaluación de balances de energía y de materia.

Winzler y Baumberger [74] subrayaron la importancia de distinguir claramente entre la energía libre de Gibbs y calor de reacción con objeto de conocer la máxima energía capaz de transformarse en trabajo útil en los procesos metabólicos.

Fue en 1912 cuando Hill [75] comprobó que la energía de Gibbs liberada durante la hidrólisis del glucógeno a ácido láctico podía llegar a ser tres veces superior al calor de reacción, sugiriendo que dicha hidrólisis podía ser la fuente de energía de la contracción muscular. Según este planteamiento, las reacciones metabólicas que tienen lugar durante el crecimiento celular no dependen del calor, sino del trabajo. Sin embargo el crecimiento microbiano está caracterizado por ser un proceso irreversible, es decir, que el trabajo realizado en el proceso neto es 0. Por consiguiente, en un proceso metabólico infinitesimal irreversible, catalizado por un sistema celular, que se considera en estado estacionario, la energía libre de Gibbs (dG) es disipada y la variación de entalpía (dH) que tiene lugar durante el proceso se puede calcular a partir del calor generado (dQ) durante el proceso de crecimiento mediante la siguiente expresión:

$$dQ = dH$$

El calor, dQ , puede determinarse mediante calorimetría y resulta igual a la suma de las variaciones de entalpía (dH) de todas las reacciones que ocurren durante los procesos de crecimiento celular. Así, aunque el proceso global esté compuesto por numerosas reacciones metabólicas individuales, el proceso neto se puede describir y tratar desde un punto de vista termodinámico como una simple reacción [24, 76-78].

La cinética, o estudio de los mecanismos de reacción a través de la velocidad, trayectoria y productos intermedios de las reacciones químicas, nos ayuda a suplir las limitaciones que tiene la Termodinámica, ya que ésta aún siendo capaz de predecir que los sustratos reaccionan hasta alcanzar sus estados más estables, se encuentra con situaciones en donde no todas las reacciones se dirigen hacia los estados más estables. Además, algunas de ellas son excesivamente lentas. La cinética aporta una valiosa información a la hora de caracterizar y comprender muchos procesos en los sistemas vivos.

Se sabe que una reacción química tiene lugar porque cierta fracción de las moléculas de los reactivos en un instante dado posee la energía suficiente para alcanzar un estado activado, también llamado estado de transición, en el que la probabilidad de que se establezca o se rompa un enlace químico para formar un producto es muy elevada. Este estado de transición se encuentra en la cima de la barrera de energía que separa a los reactivos y a los productos. La velocidad de una reacción química es

proporcional a la concentración de las especies características del estado de transición. Así se entiende la energía libre de activación como la cantidad de energía necesaria para llevar todas las moléculas de un mol de sustancia, a una temperatura determinada, al estado de transición [79]. Hasta el momento, la mayoría de las aplicaciones de la cinética de suelos ha sido en bioquímica, en donde es más obvia la falta de equilibrio.

En la Figura 12 se muestra el cambio de energía que necesita una mezcla de sustancias A y B para originar un complejo activado AB^* previo a la formación de los productos C y D, dicho de otra manera, la mínima cantidad de energía para iniciar una reacción química. Esta energía se denomina energía de activación.

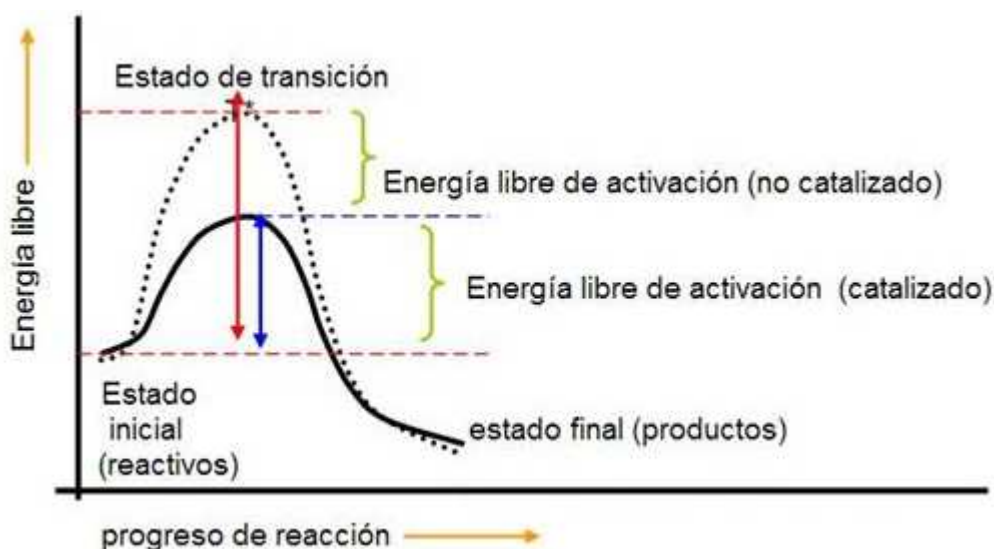


Figura 12. Gráfica en la que se muestra la evolución de energía de una reacción exergónica. La curva punteada indica el curso de la reacción sin enzima, mientras que la curva continua indica el curso de la reacción en presencia del enzima [80].

Todas las reacciones que se efectúan en los seres vivos son catalizadas por enzimas, haciendo que éstas se desarrollen a un ritmo razonable y compatible con la vida.

Muchas veces, y con el objetivo de aumentar la velocidad de una reacción, empleamos pequeñas cantidades de catalizadores. El término catalizador se emplea para referirse a cualquier sustancia que acelera o decelera el transcurso de una reacción química, sin intervenir en ella ni como reactivo ni como producto, es decir, estas sustancias no sufren cambio alguno como consecuencia de la reacción.

El catalizador no provoca la reacción, sólo afecta a la velocidad con que ocurre la misma, variando la energía de activación.

En el suelo se da el tipo más simple de acción catalítica, que es la provocada por la adsorción de diferentes reactivos en la superficie del suelo durante largos períodos de tiempo y en íntima cercanía.

En la Figura 12 también se puede observar cómo la energía de activación necesaria para formar un producto es mucho menor en las reacciones catalizadas por enzimas.

Gran parte de las reacciones químicas que tienen lugar en los suelos son posibles gracias a la acción de catalizadores enzimáticos o microbianos.

Además no se debe olvidar que las reacciones biológicas aumentan de forma general su velocidad aproximadamente tres veces por cada 10 °C de aumento de temperatura hasta lo que se define como temperatura óptima, que es la temperatura a partir de la cual la temperatura óptima disminuye rápidamente.

En función de las necesidades de temperatura para desarrollarse correctamente, los microorganismos del suelo se pueden clasificar en:

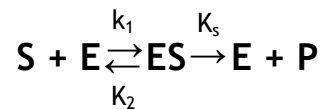
- **Termófilos**, cuyas temperaturas óptimas van desde 55 a 60 °C.
- **Mesófilos**, la mayoría de los organismos del suelo. Sus temperaturas óptimas están entre 30 y 37 °C.
- **Psicrófilos**, cuyo intervalo óptimo es de 5 a 15 °C. Aunque se pensó que estos microorganismos eran raros en el suelo, los estudios recientes sugieren que su influencia e importancia tal vez se ha subestimado.

Los estudios sistemáticos del efecto de la concentración inicial del sustrato sobre la actividad enzimática comenzaron a realizarse a finales del siglo XIX. Michaelis y Menten (Figura 13) desarrollaron una teoría en la que propusieron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de los enzimas.



Figura 13. En 1913, Leonor Michaelis y Maud Menten desarrollaron una teoría y propusieron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de los enzimas.

Michaelis y Menten propusieron que las reacciones catalizadas enzimáticamente ocurren en dos etapas. En la primera se forma el complejo enzima-sustrato (ES) y en la segunda, el complejo enzima-sustrato da lugar a la formación del producto (P), liberando el enzima libre (E):



Las velocidades de reacción se pueden expresar en función de las constantes de velocidad (k_i) y de las concentraciones de reactivos (sustrato y enzima) como:

$$v_1 = k_1[S][E], \quad v_2 = k_2[ES] \quad \text{y} \quad v_3 = k_3[ES].$$

Dado que la teoría cinética de Michaelis-Menten adopta la hipótesis del estado estacionario, según la cual la concentración del complejo enzima-sustrato es pequeña y constante a lo largo de la reacción: $[E_T] = [E] + [ES]$, donde $[E_T]$ es la concentración total del enzima, la velocidad de formación del complejo ES, v_1 , es igual a la velocidad con la que se disocia, $v_2 + v_3$; y como la concentración de $[ES]$ es constante, la velocidad de formación de los productos también lo será. Así pues, como $v_1 = v_2 + v_3$, tenemos que:

$k_1[S][E_T] - k_1[S][ES] = k_2[ES] + k_3[ES]$, de donde

$$[ES] = \frac{k_1[S][E_T]}{k_1[S] + k_2 + k_3} = \frac{[S][E_T]}{[S] + \frac{k_2 + k_3}{k_1}} = \frac{[S][E_T]}{k_m + [S]}, \quad \text{siendo } k_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \text{ la llamada}$$

constante de Michaelis- Menten.

Por lo tanto, en el estado estacionario, la velocidad de formación del producto es:

$$v = -\frac{d[S]}{dt} = v_3 = k_3[ES] = \frac{k_3[E_T][S]}{k_m + [S]}$$

- Si la concentración de sustrato es pequeña, de forma que $[S] \ll k_m$,

tenemos $v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_3[E_T][S]}{k_m + [S]} = \frac{k_3[E_T][S]}{k_m} = k_{\text{obs}}[S]$. La reacción sería un proceso cinético de primer orden.

- Si la concentración de sustrato es elevada, de modo que $[S] \gg k_m$,

tenemos $v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{k_3[E_T][S]}{k_m + [S]} = \frac{k_3[E_T][S]}{[S]} = k_3[E_T]$. La velocidad de reacción es independiente de la concentración del sustrato, y por tanto, la

reacción es un proceso cinético de orden cero. Además, tanto k_3 como $[E_T]$ son constantes, y nos permite definir un nuevo parámetro, la velocidad máxima de la reacción $v_{\max} = k_3 [E_T]$, que es la velocidad que se alcanzaría cuando todo el enzima disponible se encontrara unido al sustrato (Figura 14).

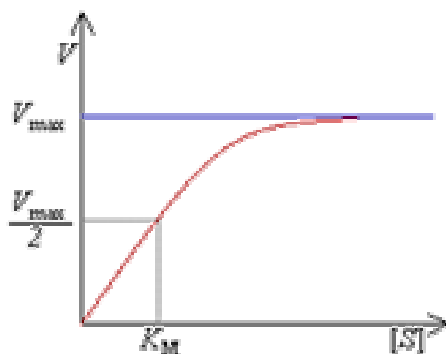


Figura 14. Representación de la velocidad de reacción frente a la concentración de sustrato. Para determinar la velocidad máxima de una reacción enzimática, la concentración de sustrato $[S]$ se aumenta hasta alcanzar una velocidad constante de formación de producto. Esa es la velocidad máxima (V_{\max}) de la reacción. En ese caso, los sitios activos de la enzima están saturados con sustrato.

Hay enzimas que no obedecen la ecuación de Michaelis-Menten. Los **enzimas alostéricos**, cuya gráfica v frente a $[S]$ no es una hipérbola, sino una sigmoide, son un ejemplo. En la **cinética sigmoidea**, pequeñas variaciones en la $[S]$ en una zona crítica (cerca a la k_m) se traduce en grandes variaciones en la velocidad de reacción.

k_m es un parámetro dependiente de la estructura del sustrato, del pH y de la temperatura.

1.3.4. Algunas notas sobre el estudio microcalorimétrico de la actividad microbiana del suelo.

Aunque en la actualidad la aplicación de la microcalorimetría al estudio del crecimiento microbiano está sobradamente establecida y afianzada por los estudios de Payne [36] y Forrest [10], esta ha sido escasamente aplicada a la investigación del crecimiento microbiano en suelos. A la hora de aplicar la calorimetría al estudio de suelos, uno debe ser consciente que no es fácil obtener información de un medio tan heterogéneo y aún es más difícil desarrollar un procedimiento experimental basado en una técnica de estudio tan inespecífica.

Como ya se dijo anteriormente, el suelo puede ser considerado como un sistema multicomponente, un sistema bioquímico abierto, formado por sólidos, líquidos y gases [81]. Esta peculiaridad de ser un sistema abierto, hace que tanto en su interior como en su superficie ocurran reacciones químicas, físicas o biológicas y se produzca un

intercambio de materia y energía con su entorno. Cada perturbación que el sistema sufre está acompañada de un intercambio de calor, y el grado de intensidad de esta perturbación está directamente relacionado con la composición del sistema. Estas actividades generan un flujo de calor causado por un crecimiento o decrecimiento de la fuente de energía, produciéndose cambios metabólicos que pueden relacionarse con la variación de entalpía determinada en las medidas calorimétricas [9], [2], [82-85].

Por estas razones las técnicas calorimétricas son muy útiles en este campo de estudio [86-88], ya que nos permiten registrar y monitorizar continuamente la señal de los procesos vivos durante largos periodos de tiempo sin producirse perturbaciones en el sistema. Por lo tanto, se puede decir que la calorimetría permite, *in situ*, la determinación de la actividad microbiana de un suelo con la ventaja añadida de ser una técnica de trabajo no destructiva. Además, la baja especificidad del método calorimétrico en este tipo de investigaciones es una enorme ventaja ya que nos permite simplificar y centrar el estudio en la determinación del calor disipado por el suelo en una ampolla calorimétrica sabiendo que éste procede principalmente de la actividad metabólica de todas las células viables y de reacciones bioquímicas de microorganismos muertos.

El proceso de adición de nutrientes al que se somete el suelo estimula de forma importante la actividad microbiana, y esto se manifiesta como un aumento inmediato de la evolución de calor, seguida de un descenso del flujo de energía. La principal causa de esta inhibición podría ser atribuida a la acumulación de CO₂ en la ampolla de medida, imposibilitando en consecuencia la cuantificación de parámetros que podrían ser utilizados como índices de actividad. Este parámetro fue estudiado por varios autores [89, 35] y los resultados obtenidos mostraron que en las investigaciones habituales en suelos la acumulación de CO₂ en la ampolla de medida no está relacionada con la inhibición, siendo la principal causa de ésta el agotamiento en la fuente de nutrientes.

La relación entre la evolución de calor y la biomasa depende de la proporción que es metabólicamente activa y de las reacciones catabólicas. Anderson y Domsh [90] usaron esta técnica para obtener una ecuación que relaciona la biomasa del suelo con la tasa de respiración después de la adición de un sustrato. Esto permite realizar experimentos sin necesidad de someter las muestras a manipulaciones destructivas [91].

De la misma manera se puede ver que la técnica microcalorimétrica resulta muy útil para predecir y cuantificar el efecto que ejerce sobre la actividad microbiana del suelo

la presencia de metales pesados [92, 93], para calcular parámetros termodinámicos como la energía libre de Gibbs o la energía de activación, y parámetros cinéticos como la velocidad máxima, μ_{\max} , k_m , o k_s .

1.4. Bibliografía.

- [1] Mortensen, V., Noren, B., Wadsö, I. Bulletin Biochemical and Biophysical Research Communications, 17,189 (1973)
- [2] Ljungholm, K., Noren, B., Skold, R., Wadsö, I. Oikos, 33,15 (1979)
- [3] Núñez-Regueira, L., Barros, N., Barja, I. Journal of Thermal Analysis, 41, 1379 (1994)
- [4] Sparling. Soil Biology & Biochemistry, 13, 93 (1981)
- [5] Ljungholm, K., Noren, B., Wadsö, I. Oikos, 33, 24 (1979)
- [6] Lamprecht. Biological Microcalorimetry. (Beezer, A.E. ed.). Academic Press. London (1980)
- [7] Yamano, H., Takahashi, K. Soil Science and Agricultural Chemistry, 47, 1281 (1983)
- [8] Barja, I., Núñez, L. Soil Biology & Biochemistry, 31, 441 (1999)
- [9] Belaich. Biological Microcalorimetry. (Beezer, A.E. ed.). Academic Press. London (1980)
- [10] Forrest, W. W., Microcalorimetry in Methods in Microbiology. (Norms, J. R. and Robbins, D. W. ed.). Academic Press. New York (1972)
- [11] Barja, I., Proupín, J., Núñez, L. Thermochimica Acta, 303, 155 (1997)
- [12] Rovira, P., Kurz-Besson, C., Couteaux, M. M., Vallejo, V. R. Soil Biology & Biochemistry, 40, 172 (2008)
- [13] Provenzano, M. R., Ouattmane, A., Hafidi, M., Senesi, N. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 61, 607 (2000)
- [14] Salgado, J., Villanueva, M., Nuñez-Fernández, O., Proupín-Castiñeiras, J., Barros, N., Rodríguez-Añón, J. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 98, 293 (2009)
- [15] Dell'Abate, M. T., Benedetti, A., Brookes, P. C. Journal of Separation Science, 26, 433 (2003)
- [16] Barros, N., Salgado, J., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín, J., Villanueva, M., Hansen, L. D. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 99, 771 (2010)
- [17] López-Capel, E., Sohi, S. P., Gaunt, J. L., Manning, D. A. C. Soil Science Society of America Journal, 69, 136 (2005)
- [18] Duguy, B., Rovira, P. Organic Geochemistry, 41, 742 (2010)
- [19] Leinweber, P., Schulten, H. R., Horte, C. Thermochimica Acta, 194, 175 (1992)
- [20] Salgado, J., González, M. I., Armada, J., Paz Andrade, M. I., Carballas M., Carballas T. Thermochimica Acta, 259, 165 (1995)
- [21] Salgado, J., Mato, M. M., Vázquez-Galiñanes, A., Paz Andrade, M. I., Carballas, T. Thermochimica Acta, 410, 141 (2004)
- [22] Barros, N., Salgado, J., Feijóo, S. Thermochimica Acta, 458, 11 (2007)
- [23] Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín-Castiñeiras, J., Núñez-Fernández, O., Villanueva, M. Soil Biology & Biochemistry, 38, 115 (2006)
- [24] Battley, E. H. Energetics of Microbial Growth. Wiley. New York (1987)
- [25] Yamano, H., Takahashi, K. Agricultural and Biology and Chemistry, 50, 3145 (1986)
- [26] Núñez-Regueira, L., Núñez-Fernández, O., Rodríguez Añón, J., Proupín Castiñeiras, J. Thermochimica Acta, 394, 123 (2002)
- [27] Médard, L. et Tachoire, H. Histoire de la Thermochimie : prélude à la thermodynamique chimique. Publications de L'Université de Provence. Provence (1994)
- [28] Dubrunfaut, C. R. Académie des Sciences. Paris, 42, 945 (1856)
- [29] Bouffard, C. R., Hebd, S. Académie des Sciences. Paris, 121, 357 (1895)
- [30] Battley, E. H. Physiology Plant, 13, 674 (1960)
- [31] Beezer. Biological Microcalorimetry. Academic Press. London (1980)
- [32] James. Thermal and energetic studies of cellular biological systems. IOP. Publishing Ltd (1987)
- [33] Stockar et al. Advances in biochemical engineering. Biotech. Vol 40. (Fiechter, A. ed.). Springer-Verlag. Berlin (1989)
- [34] Prat. Biochemical Microcalorimetry. (Brown, H.D. ed.). Academic Press. New York (1969)
- [35] Núñez, L., Barros, N., Barja, I. Thermochimica Acta, 237, 73 (1994)
- [36] Payne. Annual Review of Microbiology, 24, 17 (1970)

- [37] Wadsö. Biological Microcalorimetry. Academic Press. London (1980)
- [38] Wu, J., Brookes, P.C. and Jenkinson, D.S. Soil Biology & Biochemistry, 28, 511 (1996)
- [39] Critter, S. A. M., Freitas, S. S. and Airoldi, C. Thermochimica Acta, 394, 145 (2002)
- [40] Hatakeyama, T. and Quinn, F. X. Thermal Analysis. John Wiley & Sons. Chichester (UK) 1994.
- [41] Prime, R. B. Thermal Characterization of Polymeric Materials. Ed. Turi, E. A. Academic Press. San Diego (1981)
- [42] Barton, J. M. Advances in Polymer Science, 72, 111, Springer Verlag (1985).
- [43] Users Manual, 1020 Series TGA7, Thermal Analysis System. The Perkin Elmer Corporation (1993)
- [44] Salgado, J., Proupín, J., Villanueva, M., Rodríguez-Añón, J. A., Barros, N. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 99, 911 (2010)
- [45] Schlesinger, W. H., Andrews, J. A. Soil respiration and the global carbon cycle. Biogeochemistry, 48, 7 (2007)
- [46] Dumanski, J. Climate change, 65, 255 (2004)
- [47] Porta J. Edafología. MP (1998)
- [48] Duchaufour, P. Edafología 1. Edafogénesis y Clasificación. Ed. Masson. Barcelona (1984)
- [49] Jenkinson, D. S., Ladd, J. N. Soil Biochemistry 5, 415 (1981)
- [50] Anderson, J. P. E., Domsh, K. H. Soil Science, 130, 211 (1980)
- [51] Stephenson, M. Bacterial Metabolism. MIT. Press, Massachusetts. (1966).
- [52] Dommergues, Y., Mangenot, T. F. Ecologie microbienne du sol. Masson. Paris (1970)
- [53] Waksman, S. A. Soil Microbiology. (John Wiley and Sons, ed.). Academic Press. London (1952)
- [54] Acea, M. J., Carballás, T. Agrochimica, 44, 395 (1985)
- [55] Acea, M. J., Carballás, T. Agrochimica. 34, 1 (1989)
- [56] Atlas, R. M., Bartha, R. Microbial Ecology. (Adison Wesley, ed.). London (1981)
- [57] Kjoller, A. Struwe, S. Soil Biology & Biochemistry, 12, 425 (1980)
- [58] Diaz-Raviña, M., Acea, M. J., Carballás, T. Biological Wastes. 30, 89 (1989)
- [59] Küster, E. Soil Biology (A. Burgues, F. Raw, ed.). Academic Press. London (1967)
- [60] Lingappa, Y., Lockwood, J. L. Phytopathology, 52, 317 (1962)
- [61] Lund, J. W. G. Soil Biology. (A. Burgues, F. Raw, ed.). Academic Press. London (1967)
- [62] Campbell, R. Microbial Ecology (J.F. Wilkinson, ed.). Blackwell Sci. Publ. Oxford (1977)
- [63] Foster, S. M. Proceedings of the Society for General Microbiology, 7, 106 (1980)
- [64] Fenchel, T. Advances in Microbiology Ecology (K.C. Marshall, ed.). Plenum Press. New York (1986)
- [65] Alexander, M. Annual Review of Microbiology 25, 365 (1971)
- [66] Alexander, M. Microbial Ecology (J. Wiley and Sons, ed.). Academic Press. New York (1971)
- [67] Alexander, M. Introduction to Soil Microbiology (J. Wiley and Sons, ed.). New York (1967)
- [68] Lynch, J. M. Soil Biotechnology Microbial. Blackwell. Sci. Publ. Oxford (1983)
- [69] Gray, T. R. G., Williams, S. T. Soil Microorganisms. Longman. London (1971)
- [70] Pochon, J., Barjac, H. Traité de microbiologie des sols. Applications agronomiques. Dunod. Paris (1958)
- [71] Lynch, J. M., Fletcher, M., Latham, M. J. Microbial Ecology. A conceptual Approach. (Lynch, J. M., Poole, N. J. ed.). Blackwell Sc. Publ. Oxford (1979)
- [72] Dommergues, Y., Mangenot, T. F. Ecologie microbienne du sol. Masson. Paris (1970)
- [73] Gersan, U., Chet, I. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 18, 285 (1981)
- [74] Winzler, R. J. Journal of Cellular and Comparative Physiology, 12, 183 (1938)
- [75] Hill, A. V. Physiology, 44, 466 (1912)
- [76] Battley, E. H. Physiology Plant, 13, 192 (1960)
- [77] Nannipieri, P. Current Perspectives in Microbial Ecology. American Society of Microbiology. Washington, D.C. (1984)
- [78] Brookes, P. C., Kragt, J. F., Powlson, D. S. and Jenkinson, D. S. Soil Biology & Biochemistry, 17, 831 (1985)
- [79] Lehninger, A. Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona (1989)

- [80] <http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/funcion%20enzima.html>
- [81] Ljungholm, K., Noren, B., Odham, G. *Oikos*, 34,98 (1980)
- [82] Sparling, W. *Soil Biology & Biochemistry*, 13, 373 (1980)
- [83] Sposito, G. *The Chemistry of Soils*. Oxford University Press. Oxford (1989)
- [84] Reh, U. *Thermochimica Acta*, 193, 107 (1991)
- [85] Wadsö, I. *Biochemical Thermodynamics*. (Sons, M. N. ed.). Elsevier. Amsterdam (1988)
- [86] Yamano, H., Takahashi, K. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47, 1493 (1979)
- [87] Itoh, S., Takahashi, K. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48, 271 (1984)
- [88] Lamprecht, I., Motzkus, C., Scaarchmidt, B., Coenen-Staes, D. *Thermochimica Acta*, 172, 127 (1990)
- [89] Kawata, T., Takahashi, K. *Soil and Agricultural Chemistry*, 47, 1281 (1982)
- [90] Anderson, J. P. E., Domsh, K. H. *Soil Biology & Biochemistry*, 10, 215 (1978)
- [91] Pochon, J., Tardieux, P. *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*. La Tourelle. St. Mandé (1962)
- [92] Chang Li, Tang Hou-Kuan, Song Zhan-Hua, Qu Song-Sheng. *Thermochimica Acta*, 172, 33 (1988)
- [93] Allen, H. E., Huang, C. P., Bailey, G. W., and Bowers, A. R. *Metal Speciation and Contamination of Soil*. Lewis Publishers. Boca Ratón (USA) (1995)

Capítulo 2. Descripción de la investigación.



Paysage agricole près de Cognac, Charente, France (45 ° 42'N - 0 ° 17'O).
Yann Arthus-Bertrand.

Capítulo 2. Descripción de la investigación.

2.1. Zona y del procedimiento de muestreo	47
2.2. Trabajo de campo	54
2.3. Propiedades físicas, químicas y biológicas de las muestras	55
2.4. Experiencias calorimétricas: TAM	65
2.5. Análisis térmico: DSC	71
2.6. Análisis térmico: TG	79
2.7. Bibliografía	85

2.1. Zona y procedimiento de muestreo.

Para la realización de este trabajo de investigación se diseñó un procedimiento de muestreo que comienza con la selección de cuatro suelos tipo Cambisol húmico eutrópico, sometidos a cuatro procesos de explotación agroforestal diferentes en la zona de Borreiros-Viveiro (Lugo). Las coordenadas geográficas de la zona de muestreo son: 43° 37' 51.94'' N- 7° 37' 22.63'' O (Figura 15).

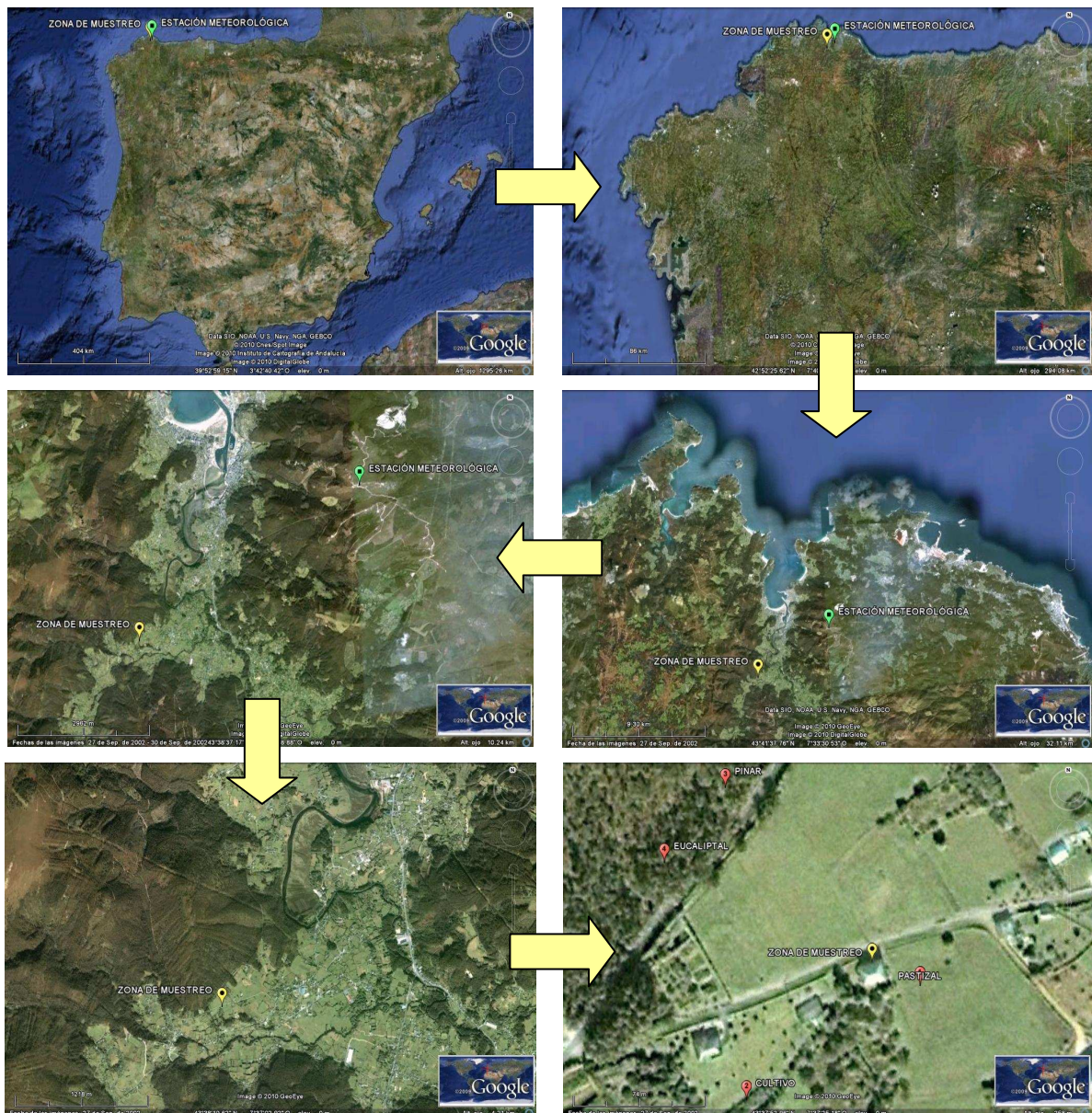


Figura 15. Localización de la zona de estudio. Las flechas indican la secuencia a seguir para llegar a la situación exacta de la zona en donde se realizaron los muestreos. En la última vista aérea, y en color rojo, se marcan los 4 puntos en donde se tomaron las muestras de los diferentes tipos de suelo.

Estos cuatro suelos, situados en una misma zona de unas seis hectáreas de superficie, tienen un mismo origen geológico y están sometidos a las mismas condiciones de ambiente físico. Como características principales y comunes destacamos un substrato consistente en pizarras y filitas con importantes cantidades de materia orgánica en diferentes grados de descomposición. Todos los suelos tienen una orientación sur-sureste. Para diferenciarlas mejor los denominaremos:

- **Suelo de pastizal.** Suelo de pradera sin acción antrópica alguna en los últimos 20 años. Este suelo posee una profundidad que oscila entre 40 y 80 cm dependiendo de la climatología antes de llegar a la zona freática. Los horizontes están poco marcados, destacando un horizonte superficial orgánico de unos 10 cm con multitud de raicillas. La parte más profunda está formada por una capa rocosa disgregada. El suelo tiene una pendiente del 11.11 %. Soporta una vegetación de pasto típica, conformada por especies herbáceas pertenecientes a las familias Poaceae (gramíneas) y Fabaceae, y algunas especies invasoras (Figuras 16 y 17).



B. pinnatum



B. maxima



B. media



D. glomerata



H. lanatus



P. pratensis



L. multiflorum

Figura 16. Gramíneas: *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv., *Briza maxima* L., *Briza media* L., *Dactylis glomerata* L., *Holcus lanatus* L., *Poa pratensis* L. o *Lolium multiflorum* Lam.

- **Suelo de cultivo.** Suelo sometido anualmente a una explotación agrícola típica de minifundio de Galicia en donde se intercalan diferentes especies (tomates, maíz, patatas, habas, lechuga, pepinillos, calabaza, calabacín o remolacha) y en diferentes procesos de cultivo a lo largo del año. Este suelo, aunque comparte las características comunes al suelo de pastizal, ha sido modificado de forma

habitual con la adición de abonos, estiércoles y cal para la mejora de la producción. Además, la estructura de horizontes superiores, los primeros 50 cm, ha sido destruida debido a las labores de labranza típicas. Tanto los suelos de pastizal como los de cultivo están a pie de ladera (65 m de altitud) en una zona de deposición. Este suelo tiene una pendiente del 24.44 %. Los suelos de pastizal y cultivo están situados a una distancia inferior a los 100 m y en la misma curva de nivel.



T. campestre



T. pratense



T. repens



B. perennis



C. palustre



D. carota



R. bulbosus



R. repens



R. acetosa



P. lanceolata

Figura 17. Leguminosas: *Trifolium campestre* Schreber, *Trifolium pratense* L., o *Trifolium repens* L. y especies invasoras: *R. repens*, *R. acetosa* o *P. lanceolata*

- **Suelo de pinar.** Suelo sometido a una primera repoblación de pinos hace 15 años. En esta zona la estructura del suelo cambia aparentemente. La profundidad es menor y en zonas muy superficiales afloran formaciones de pizarra y filitas en diferentes estados de degradación. La diferenciación de horizontes es difícil, destacando un horizonte superficial orgánico y un horizonte A/B. Hay matorral bajo formado principalmente por ericáceas y helechos.
- **Suelo de eucaliptal.** Suelo sometido a una primera repoblación de eucaliptos hace 15 años. Comparte las características del suelo de pinar pero en él hay a mayores presencia de tojo y retama. Los suelos de pinar y eucaliptal están situados uno al lado del otro y en la misma línea de nivel a unos 100 m uno del

otro, en una zona media de ladera y con una pendiente del 28.88 % y que facilita arrastre en caso de lluvias importantes. Estos suelos están separados aproximadamente 200 m de los suelos de pastizal y de cultivo. Tanto el suelo de pinar como el de eucaliptal eran tradicionalmente suelos dedicados al pasto y cultivo de cereales.

En la Figura 18 se muestran fotografías de las cuatro zonas en donde se realizaron los muestreos:



Figura 18. Los cuatros suelos muestreados están sometidos a diferentes procesos de explotación. De izquierda a derecha tenemos el pastizal, cultivo, pinar y eucaliptal. Debajo de cada imagen, se observan detalles del suelo correspondiente.

La superficie de muestreo tiene unas condiciones climáticas típicas de la zona Atlántica húmeda, y las especies forestales más abundantes en ella son *Quercus robur* L. (roble), *Pinus pinaster* Aiton. (pino) y *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto). Esporádicamente se presentan algunas formaciones de acacias, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (aliso) y *Betula pubescens* Ehrh. (abedul).

Las características más importantes de ambiente físico de la zona se recogen en la Tabla 2 y se representan en forma de diagrama bioclimático [1] en la Figura 54.

	En	Fb	Mr	Ab	My	Jn	Jl	Ag	Sp	Oc	Nv	Dc
TM	8.8	8.8	9.7	10.3	12.3	14.9	17.2	17.8	16.9	14.0	12.0	9.9
P	140	101	85	131	71	63	49	55	87	142	104	151
DH	240	201	185	231	171	163	131	90	87	204	204	215
H	71.8	66.7	71.0	72.5	74.7	73.2	73.5	71.4	68.9	71.3	70.6	71.4
I	36.4	39.8	43.9	36.9	44.3	44.7	47.0	50.3	45.4	39.4	35.4	31.1
HS	106.2	117.8	162.1	149.1	202.2	205.6	218.7	217.3	171.2	134.9	103.6	87.3
DV	9.7	10.5	9.5	7.8	7.6	5.9	5.0	5.5	5.8	7.8	8.9	9.9
ETP	26	29	37	44	61	81	96	93	79	56	41	28
ETR	5.3	5.9	7.4	8.9	12.2	16.2	19.1	18.7	15.8	11.1	8.2	5.7
IBP	0.26	0.26	0.44	0.56	0.96	1.48	1.94	2.06	1.88	1.30	0.90	0.48
IBL	0.26	0.26	0.44	0.56	0.96	1.48	1.94	1.97	1.88	1.30	0.90	0.48

Tabla 2. Principales parámetros climáticos de la zona de muestreo. Resultados medios (2005-2010). Estos datos son la base para la elaboración del diagrama bioclimático de la zona de trabajo y se han obtenido como resultado medio de los últimos 5 años. Los valores han sido obtenidos de la base de datos de METEOGALICIA, y más concretamente de la estación situada a 525 m de altitud en la zona de Penedo do Galo (43°39'36.32"N-7°33'44.98"O). Esta estación está aproximadamente a 6 km de la zona de muestreo. Se utilizan las siguientes **abreviaturas** TM (temperatura media, °C), P (precipitación, mm), DH (disponibilidad hídrica, mm), H (humedad, %), I (insolación, %), HS (horas de sol año⁻¹), DV (días de viento mes⁻¹), ETP (evapotranspiración potencial, mm), ETR (evapotranspiración residual, mm), IBP (intensidad bioclimática potencial, bcu), IBL (intensidad bioclimática libre o intensidad climática en un periodo sin limitación hídrica, bcu), bcu (unidades bioclimáticas).

Este tipo de diagramas son de enorme utilidad para obtener una idea global de la influencia de estos parámetros climatológicos en la actividad microbiana de los suelos y, por lo tanto, en la productividad o capacidad del suelo por mantener especies forestales en crecimiento activo. De forma específica, los principales parámetros climáticos (velocidad máxima, mínima y media de ráfaga de viento, dirección promedio de la ráfaga, radiación media, minutos de sol, lluvia acumulada, intensidad de lluvia instantánea, temperatura y humedad relativa, presión atmosférica, temperatura del aire y del suelo a 10 cm, temperatura de rocío, o evapotranspiración potencial) se controlan en la actualidad en continuo con una estación meteorológica IQ 3000 propia que envía datos en tiempo real a METEOGALICIA y a nuestros laboratorios. La referencia de esta estación en la web de METEOGALICIA es "Borreiros" [2]. No se han podido utilizar los datos de esta estación en esta investigación porque en el momento de muestreo se estaba instalando.



Figura 19. Vista general de la estación meteorológica de Borreiros.

Para la realización del estudio de estos suelos se tomaron muestras a lo largo del año eligiendo los meses finales de cada periodo estacional. Así las muestras fueron tomadas durante los meses de Mayo, Septiembre, Enero y Marzo. Todos los muestreos coinciden a mediados de mes y se hacen el mismo día.

Para cada suelo se tomaron dos muestras que denominaremos A (micro) y B (prop). La muestra A (micro), aproximadamente unos 500 g, se utilizó para las determinaciones microcalorimétricas, y las experiencias de análisis térmico. La muestra B (prop), unos 12 kg aproximadamente, se utilizó para la determinación de las propiedades físicas, químicas y biológicas.

Ambas muestras siguieron un procedimiento de recogida diseñado previamente por nuestro grupo de investigación con el objetivo de asegurar la veracidad, reproducibilidad y representatividad de las determinaciones [3]. De forma esquematizada, y en particular para la muestra A (micro), el proceso de muestreo siguió el siguiente protocolo:

- Se selecciona una superficie de 100 m² dentro de la zona de muestreo. Esta superficie debe quedar en el interior de la zona de muestreo para eliminar el efecto borde.
- Esta zona se divide en cuadrículas de 1 m².

- Se eligen seis cuadrículas al azar. En estas cuadrículas se realiza la toma de muestras.
- Antes de iniciar la recogida de la muestra, se elimina la capa de vegetación superficial, unos 5 cm.
- En cada cuadrícula se toma aproximadamente 1 kg de muestra entre los 10 y los 20 cm de profundidad.
- Las muestras tomadas de las seis cuadrículas se homogenizan sobre una lámina de polietileno y mediante el procedimiento del cuarteo se prepara una muestra de 500 g aproximadamente. Este proceso asegura no sólo una elevada homogenización sino una reproducibilidad y representatividad adecuadas de los resultados [4-5], a la vez que recoge la diversidad y densidad de los microorganismos presentes en el suelo del muestreo.

A continuación las muestras son introducidas en bolsas de polietileno cerradas herméticamente para evitar la contaminación y pérdida de humedad durante el traslado al laboratorio, con el fin de mantener las condiciones de la zona de muestreo todo lo posible. Estas bolsas se introducen en una caja isotérmica y se trasladan al laboratorio en un periodo inferior a las 6 horas.

Para la muestra B (prop) el proceso es similar con la única peculiaridad que se toman aproximadamente unos 5 kg de muestra en cada cuadrícula con el fin de preparar aproximadamente unos 12 kg por punto de muestreo. En este caso la profundidad de extracción de muestra puede llegar a los 50 cm, con la intención de reproducir lo mejor posible la composición y estructura del perfil del suelo.

Al mismo tiempo se realizan medidas de humedad y temperatura ambiental utilizando un termo higrómetro HANNA Instruments 18-10659, temperatura de la capa superficial del suelo (0-30 cm) con una sonda de inmersión de platino, y densidad aparente utilizando un cilindro metálico de 250 cm³. Estos datos, junto con los de la estación meteorológica (a 10 cm por debajo de la superficie, en superficie y a 10 cm por encima de la superficie), nos permiten establecer y definir los perfiles térmicos del suelo de la zona.

Para completar las mediciones y caracterización de la zona de muestreo se realizan descripciones de:

- Tipo y características de la vegetación de la zona.
- Orientación, topografía y pendiente.
- Descripción de la superficie del suelo y zona circundante.

- Momento del muestreo (fecha y hora). En todos los muestreos la hora es siempre la misma, las 12 del mediodía, y el periodo de toma de muestra a mitad de periodo estacional.
- Características medioambientales de la zona: presencia de fuentes o agua superficial, actividad a la que se dedica el terreno y terrenos adyacentes, presencia de ganadería, cercanía a carreteras o pistas, etc.
- Color del suelo.
- Cualquier curiosidad o peculiaridad propias de las zonas de muestreo.

2.2. Trabajo de campo.

En el trabajo de campo se realizan diferentes determinaciones complementarias que ayudan globalmente a comprender los resultados obtenidos en el laboratorio.

- **Toma de muestras.** Para ello se utilizan cintas métricas, estacas, y cordones para definir la zona y dividirla en cuadrículas, y dinamómetros de diferente precisión PROMAN (de 0 a 200 kgf) para pesar la muestra. También, con el fin de “limpiar” la zona y tomar las muestras diferentes útiles propios de jardinería como rastrillo, picos, palas, desbrozadora, hoces, etc.
- **Humedad y temperatura ambiental.** Para ello se utiliza un termohigrómetro tal y como se comentó anteriormente.
- **Temperatura de la capa superficial** del suelo mediante una sonda de inmersión de platino CRISON thermometer 638 Pt con una escala de medida de -199.9 a 850.0 °C, una resolución de 0.1 °C y una velocidad de medida de una lectura en cada segundo. Con estos datos se están elaborando perfiles térmicos del suelo para tener mayor información de la influencia de la temperatura en el metabolismo de los microorganismos.
- Toma de muestra para la determinación de la **densidad aparente** utilizando un cilindro metálico de 6.5 cm de diámetro, 7.5 cm de altura y con una capacidad de unos 240 cm³ aproximadamente. Este cilindro está constituido por un cuerpo con bordes biselados, que se introduce en el suelo utilizando un martillo de goma, y por dos tapas que lo cierran para su transporte al laboratorio.



Figura 20. Durante el trabajo de campo los materiales básicos utilizados son palas, paletas, picos, hachas, tijeras de poda, sierras, desbrozadora, rastrillos, cintas métricas, dinamómetros, conductivímetros, oxímetros, termo higrómetro, etc.

- Para la **determinación de la pendiente** utilizamos un hipsómetro Suunto Instrument PM-5/1520 PC.

2.3. Propiedades físicas, químicas y biológicas.

Una vez transportada la muestra al laboratorio se comienza con la preparación y caracterización de la muestra. Para ello se determina de forma inmediata:

- La **masa de la muestra** que llega al laboratorio mediante una balanza SALTER AND EP 22KA con una sensibilidad de 0.1 g.
- La **humedad** mediante gravimetría. Para ello se introduce una pequeña parte de las muestras A (micro) y B (prop) en un arcón desecador de convección natural SELECTA de 150 l de capacidad a 105-110 °C durante 24 horas hasta peso constante. Una vez pasado este periodo se determina la pérdida de peso [6, 7].
- El resto de la muestra A (micro) se somete a un proceso de **tamizado** utilizando una tamizadora mecánica CISA RP 200N en la que se colocan 8 tamices con una luz de poro que va desde 20 μ m hasta los 20 mm para realizar la clasificación granulométrica del suelo según la Norma ISO 3310.1. La muestra obtenida menor a los 2 mm se guarda en bolsas herméticas resistentes de polietileno y se guarda en una nevera Lynx 2S a 4 °C durante unos 3 meses con el objetivo de asegurar las condiciones ideales de medida y la reproducibilidad de las determinaciones calorimétricas [8]. El resto de la muestra se deshecha.

- El resto de la muestra B (prop) se deja **secar a temperatura ambiente** hasta que tiene peso constante. Para ello se extienden las muestras sobre una mesa en un laboratorio con una temperatura de 22 °C constantes y buena aireación. Posteriormente se tamizan igual que con la muestra A (micro). En este proceso se hace una diferenciación en elementos muy gruesos, gruesos y finos [9] con el fin de determinar posteriormente la estructura y textura del suelo. También se describen los diferentes elementos muy gruesos y gruesos. Sólo los elementos finos, aquellos con una granulometría inferior a los 2 mm son utilizados para la determinación de las propiedades físicas. Estos elementos finos son la parte activa del suelo, tanto física como bioquímicamente (fuente de minerales). En ellos tenemos la arena y el limo grueso (esqueleto y fuente de materiales que favorece formación agregados), y la arcilla (en el coloide y ejerce de cemento para los agregados). El resto de la muestra, aquellas fracciones superiores a los 2 mm, se desecha. Esta fracción no se utiliza para definir la textura de los suelos aunque es de gran importancia para las labores agrícolas y las propiedades físicas de los suelos. No se debe obviar que los elementos gruesos son el esqueleto del suelo, y aunque no valen para clasificar la textura, son de gran influencia en las propiedades físicas, sobre todo en aquellas relacionadas con el movimiento de gases y líquidos en el suelo, además de ser un elemento clave en la prevención y lucha contra la erosión y en los estudios de economía hídrica en suelos deficitarios [10].



Figura 21. Durante el trabajo de laboratorio los equipos utilizados principalmente son una tamizadora automática con tamices desde 20,00 mm hasta 20 μ m, estufas de convección natural para secar el material, agitadores, balanzas de diferente precisión, colorímetro, etc.

Todas las determinaciones fueron realizadas con la muestra B (prop), a 22 °C y con una humedad relativa del 75 %.

De forma resumida las determinaciones realizadas fueron para las propiedades físicas:

- **pH.** Para ello se utilizó un micropH 2000 CRISON (Figura 22). Las medidas se realizaron introduciendo un electrodo en una solución de suelo (10 g de suelo en 25 ml de agua destilada). Este procedimiento es el aconsejado por la International Society of Soil Science (ISSS) [11].

Se realizaron también determinaciones del pH con las muestras iniciales de suelo, tal y como llegaban al laboratorio. Las diferencias observadas en los resultados obtenidos no fueron significativas. El pH es clave para el desarrollo correcto de los microorganismos ya que determina la movilidad de los diferentes



Figura 22. Determinación del pH de uno de los suelos

elementos, tiene enorme incidencia sobre la disponibilidad de nutrientes y sobre el riesgo de toxicidad, tanto natural como artificial, afecta a la movilidad de los diferentes elementos químicos del suelo y modifica la capacidad de intercambio catiónico (CIC). Todos ellos son parámetros básicos para la productividad de un suelo.

- **Capacidad de campo** mediante el procedimiento definido por Cassel y Nielsen [12,13]. Para ello se introdujo el suelo en un embudo poroso tipo 3 y se tapó con parafilm perforado. Este embudo se puso en contacto con otro embudo mediante un tubo de silicona de 1m de longitud (Figura 23). Durante 48 horas se sometió a un potencial de succión (pF2) de 9.8 kJ kg^{-1} de agua y se dejó equilibrar. Posteriormente se pone



Figura 23. Determinación de la capacidad de campo. Para ello se utiliza un embudo poro tipo 3 (izquierda) donde se pone el suelo conectado por una manguera de silicona de 1m a un embudo convencional (derecha) para asegurar un libre movimiento de agua.

a escurrir durante otras 48 horas. Finalizado este periodo se recoge una muestra y se somete a un proceso de gravimetría con el fin de determinar su humedad.

Esta humedad se define como la capacidad de campo de un suelo, y que no es otra cosa que la capacidad del suelo por retener agua en condiciones normales. Este dato debe ser analizado conjuntamente con la textura, estructura, índice de infiltración de agua, conductividad hidráulica y la humedad global del suelo. Para la determinación de la capacidad de campo se utilizó una placa porosa de vidrio sinterizado.

- **Textura.** El procedimiento para la clasificación textural de un suelo se basa en el método ASTM Standard 152H [14] utilizando un hidrómetro de Boyoucos (Figura 24). Mediante este procedimiento definimos y cuantificamos las fracciones elementales de un suelo, arena, limo y arcilla, es decir la composición granulométrica del mismo o dicho de otra manera la proporción relativa en la que se encuentran las diferentes partículas elementales del suelo. Estos valores se representan en el triángulo textural (Figura 25), propuesto por el ISSS/FAO siguiendo la clasificación definida por el USDA [9].
- **Estructura.** Es la manera en que las partículas o unidades componentes de un suelo (arena, limo y arcilla), se ensamblan formando agregados o peds, es decir, unidades mayores con planos débiles entre sí. Es una propiedad del suelo que permite diferenciar al suelo del material geológico.



Figura 24. Hidrómetro de Boyoucos.

A partir de los datos de textura, de los obtenidos en el proceso de clasificación de la composición granulométrica y de la observación se clasifican los suelos en función de su estructura.



Figura 25. El triángulo textural se utiliza para clasificar los suelos en función de la proporción de sus diferentes clases texturales.

- **Densidad real.** Se determina utilizando una balanza Mettler Toledo XS 104 (Figura 26) con una sensibilidad de 0.1mg con un kit de densidad XS [15]. La densidad real caracteriza la densidad propia de los componentes sólidos minerales del suelo.
- **Densidad aparente** o densidad del suelo como estructura teniendo en cuenta sus diferentes fracciones y la estructura porosa propia. Para ello se utilizó el cilindro metálico mostrado



Figura 26. Balanza científica Mettler XS104 con kit para la determinación de densidades.

en la Figura 27. El método de determinación consiste en la introducción cuidadosa del cilindro en el suelo, y con la ayuda de un martillo de goma, para evitar compactaciones indeseadas en la estructura del suelo y que podrían desvirtuar la medida. Este cilindro se extrae del suelo y posteriormente se cierra con sus tapas, se introduce en una bolsa que se cierra herméticamente y se transporta al laboratorio. En el laboratorio se sacan las tapas y se introduce en una estufa de convección con el objetivo de determinar



Figura 27. Cilindro metálico utilizado para determinar la densidad aparente. Los bordes del cilindro son biselados para facilitar su introducción en el suelo, su diámetro es de 6.5 cm y una altura de 7 cm.

su humedad. La relación entre el peso seco de la muestra y el volumen que ocupa nos da la densidad aparente. Los valores de densidad aparente y humedad son claves para la determinación de la porosidad y la comprensión de la estructura y estabilidad estructural del suelo. La densidad aparente es la masa de suelo seco por unidad de volumen de suelo incluidos los vacíos. Está íntimamente relacionada con la textura, contenido de materia orgánica, porosidad, compactación-compresión, conductividad térmica y resistencia a la penetración. Es un dato estable a lo largo del tiempo.

- **Humedad residual.** Para ello se extendió el suelo en una mesa de laboratorio, tal y como se comentó anteriormente, y cada 24 horas se sometió a un proceso de remoción hasta alcanzar el peso constante. A continuación este suelo se introduce en una estufa para determinar su humedad mediante gravimetría. La diferencia entre estos dos resultados es la humedad residual del suelo [6, 7], o lo que es lo mismo, su humedad de constitución.
- **Porosidad.** Es el resultado o consecuencia de la estructura y textura del suelo. Se puede definir como el espacio hueco que resulta de la agregación de las partículas minerales individuales con participación de la materia orgánica. Es realmente el volumen de agua y aire contenido en una unidad de volumen de suelo. Influye directamente sobre el contenido de agua, y mantenimiento de una correcta aireación, indispensable para la bioactividad edáfica y para las plantas.

Se determinó siguiendo el proceso definido por Dannielson y Sutherland [16]. Debemos distinguir entre tres tipos de porosidad diferentes: porosidad total, porosidad de aire y porosidad de agua. Analizadas en conjunto aportan información sobre la capacidad que tienen los suelos por favorecer en su seno el movimiento de líquidos y gases. Esta particularidad del suelo va a ser la responsable de la conductividad hidráulica y como consecuencia directa de esto, del movimiento de nutrientes a las plantas y consecuentemente de la potencialidad productiva de los suelos.



Figura 28. Montaje para determinar la conductividad hidráulica. Consta de un embudo de carga, un cilindro de vidrio, un embudo poroso tipo 0, y una probeta de recogida.

Los suelos muestreados tienen una constitución franca en cuanto a su porcentaje de poros, es decir, un 65 % de poros de los cuales la mitad como mínimo son capaces de conducir fluidos. Con esto se asegura una buena aireación y una reserva de agua.

- **Conductividad hidráulica y grado de infiltración** (Figura 28) [17]. Para ello se determinó la constante de conductividad hidráulica. Este procedimiento es muy similar al propuesto por Darcy y O'Neal. Se utiliza un embudo de poro 0 y un diámetro de 6 cm, y siguiendo la clasificación propuesta por Landon, se somete el suelo a una carga de agua continua y estable hasta alcanzar una velocidad de flujo continua. Hoy en día el establecimiento y adecuación de la conductividad hidráulica es clave para los estudios de economía hídrica y de erosionabilidad.



Figura 29. Cuchara de Casagrande automática (derecha) y centrífuga MEDITRONIC de SELECTA.

Dentro de las propiedades físicas se debe hacer una mención especial a las denominadas propiedades dinámomecánicas del suelo, entendiendo que son aquellas relacionadas con la manifestación del comportamiento de éstos frente a un esfuerzo aplicado, tanto interno como externo, y que se expresan como diferentes tipos de respuestas en

forma de movimientos, fracturas, flujo o compactación. Entre ellas destacamos:

- **Índice de plasticidad.** Se determina una vez definido el límite líquido del suelo [18] mediante una Cuchara de Casagrande (425 μm BS ASTM 4318 or BS 1377:2) (Figura 29), y el límite plástico utilizando el método de Atterberg con muestras tamizadas (tamiz n° 40 ASTM con malla 0.1 mm). Posteriormente, comparando ambos valores, se clasifica el suelo siguiendo la carta de plasticidad ASTM-D2487 [19]. Este valor nos aporta información acerca de la resistencia, compresibilidad, plasticidad y tipo de suelo.
- **Cantidad óptima de humedad para la compactabilidad [6] y máximo grado de densidad seco.** Para la determinación de esta propiedad dinamomecánica del suelo se utilizó el Test Proctor BS1377 part. 4, 2.5 kg Rammer method (Figura 30). Estos resultados deben ser analizados conjuntamente con el índice de plasticidad. Las conclusiones obtenidas ayudan a definir los mejores procesos de mecanización y momento para la explotación sostenible de un terreno.
- **Adhesividad.** Fue determinada utilizando el método de la espátula de Níquel. Para ello se introdujo una espátula de Níquel con una superficie de 3.75 cm^2 y se cuantificó la cantidad de suelo adherido por cm^2 . Este dato aporta información acerca del grado de “scouring” de un suelo a la hora de ser trabajado. Está considerado como un índice indirecto de la capacidad de la cohesión y capacidad estructural de un suelo.



Figura 30. Realización del Test Proctor con la maza de 2.5 kg.

Las propiedades físicas y dinamomecánicas, excepto el pH, el contenido en humedad y la temperatura, fueron determinadas sólo una vez al año. Todas las propiedades físicas se realizaron siguiendo escrupulosamente los test normalizados aconsejados en la bibliografía y que son de uso general en la ingeniería civil. Debido a la estabilidad de estas propiedades, y debido a que durante el estudio los suelos no fueron sometidos a ninguna operación ajena al muestreo, no se realizaron medidas estacionales tal y como se hace con el resto de propiedades o parámetros estudiados.

Las propiedades químicas determinadas fueron:

- **Composición elemental** (C, H, O, N y S). Estas determinaciones fueron realizadas en el Servicio de Análisis Elemental de la USC [19].
- **Composición química.** Se realizó un barrido de elementos químicos mediante Fluorescencia de rayos X para detectar y cuantificar su presencia. Estas determinaciones se realizaron en el Servicio de Análisis Elemental de la USC [20]. Estos ensayos se realizaron con los suelos tratados de forma sencilla (con la fracción menor a 2 mm y secos) y con suelos sin materia orgánica (con la fracción menor a los 2 mm, secos y tratados en horno de mufla tal y como se comentará más adelante).



Figura 31. Estufa de cultivo SELECTA Incubig.

Se debe tener en cuenta que todas las determinaciones de la composición química, a pesar de ser realizadas bajo normativas y protocolos de trabajo rigurosos, son aproximadas y por lo tanto sus valores son orientativos.

Dentro de las propiedades biológicas destacamos las siguientes:

- El número más probable de microorganismos (NPM). Para ello se realiza cultivo de los diferentes suelos muestreados en cada período en una estufa de cultivo Selecta Incubig 400L (Figura 31) siguiendo el procedimiento basado en la determinación de la ausencia o presencia de microorganismos en diferentes alícuotas individuales con diluciones de suelo [21]. Para ello, con 20 g de muestra de suelo se realizó una dilución 10^{-1} en agua destilada estéril, agitando la suspensión magnéticamente durante 20 minutos con el fin de romper los agregados del suelo y liberar los microorganismos a la solución.



Figura 32. Autoclave SELECTA AUTESTER-E 140 DRY.

Posteriormente, a partir de esa suspensión, se realizaron diluciones hasta 10^{-10} . Para realizar esta fase de la investigación, todo el material utilizado es previamente esterilizado en un autoclave SELECTA AUTESTER-E 140 DRY (Figura 32).

- Los **recuentos de la población microbiana viable** se hicieron en medio líquido extracto de levaduras-sales minerales [22]. La composición general de este medio se puede ver en la Tabla 3. Se inocularon 5 tubos por dilución, incubándose en estufa a 28 °C durante 21 días. Se utilizaron las tablas de Mac Grady [23] para calcular el número más probable de microorganismos.

Medio (g l ⁻¹)		Solución (g en 100 ml)	
Glucosa anhidra	1.00	H ₃ BO ₄	0.10
KNO ₃	0.50	MnSO ₄	0.050
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	0.20	ZnSO ₄	0.050
K ₂ HPO ₄	1.00	CuSO ₄	0.050
CaCl ₂	0.10	FeCl ₃	0.050
NaCl	0.10	NaMoO ₄	0.050
FeCl ₃	0.01	NiCl ₂	0.025
Levadura	1.00	CoCl ₂	0.025

Tabla 3. Composición del medio base de cultivo usado para la determinación del NPM.

- **Contenido en materia orgánica.** Este valor aporta información acerca de la capacidad de un suelo por suministrar nutrientes a la fase viva del suelo para su correcto desarrollo [24]. Para calcular el contenido en materia orgánica de las muestras de suelo se introdujo la muestra en un horno de mufla SELECT-HORN 2000367 de SELECTA (Figura 33) y se siguió el procedimiento de pérdida de materia orgánica por ignición. De forma resumida, se introdujeron 5 g en un crisol de porcelana y posteriormente este crisol se introdujo en un horno de mufla a 600 °C durante 2 h.



Figura 33. Diferentes hornos de mufla, y balanza SALTER AND EP 22KA.

Por diferencia de pesadas se calcula la pérdida de materia orgánica [25].

- **La relación C/N.** Este parámetro es clave para determinar el grado de mineralización de un suelo y se determina a partir de los datos anteriores y de los de fluorescencia de rayos X realizados por el Servicio de Análisis Elemental de la USC [20]. Esta relación suele estar en torno a 10 en los horizontes antrópicos y guarda relación con el contenido total de materia orgánica. Cuanto menor sea el valor de esta relación, mayor será el grado o tasa de mineralización de la materia orgánica, y por tanto, la calidad edáfica será superior. Altos valores de la relación C/N de forma continua pueden destruir la microflora y la microfauna del suelo, provocando una pérdida casi definitiva del suelo para uso agrícola.

Tanto las propiedades químicas como biológicas se determinaron para cada suelo en cada uno de los periodos estacionales muestreados con el fin de analizar su evolución a lo largo del año y establecer relaciones con los datos obtenidos en el estudio microcalorimétrico.

2.4. Experiencias calorimétricas: TAM.

Para la realización de las experiencias calorimétricas se utilizó un microcalorímetro 2277 Thermal Activity Monitor de la casa Thermometric AB (Figura 34). Este equipo, diseñado para operar en un amplio rango de reacciones químicas y biológicas, puede observar y cuantificar tanto procesos exotérmicos como endotérmicos, obtener información concerniente a la velocidad y extensión de reacciones químicas básicas, cambios de fase, cambios de estructura, y metabolismo de seres vivos.



Figura 34. Microcalorímetro TAM 2277 (Thermal Activity Monitor).

Con este sistema calorimétrico se pueden observar fracciones de μW , es decir, pueden ser detectadas diferencias de temperatura inferiores a $10^{-6} \text{ }^{\circ}\text{C}$. Su funcionamiento se basa en el principio de flujo de calor o de “fuga de calor”, en el cual el calor producido en un vaso térmicamente definido fluye al exterior para mantener el equilibrio térmico.

De forma general, el equipo consta de los siguientes elementos:

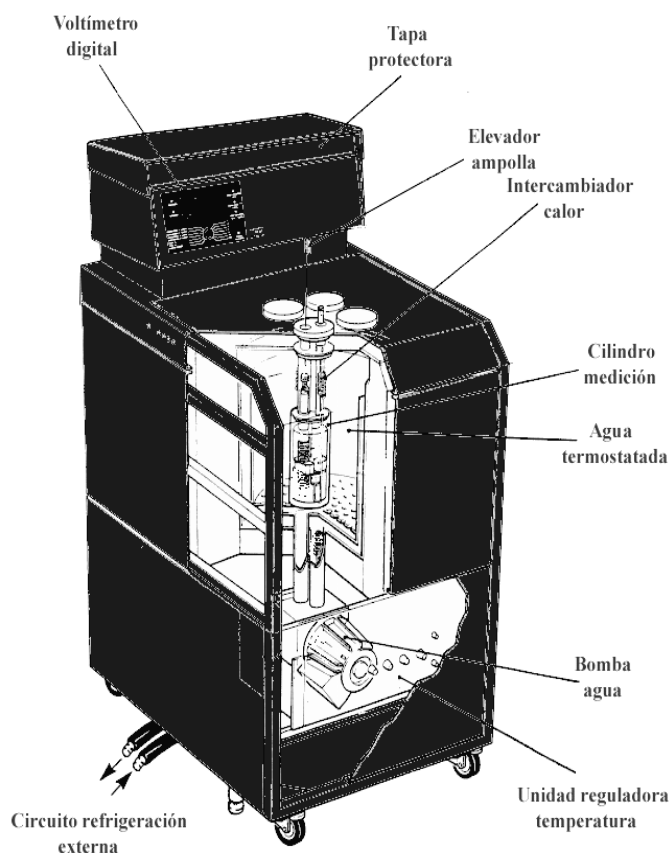


Figura 35. Detalle del TAM que muestra sus diferentes partes.

El conjunto está cubierto por una capa de acero inoxidable ajustada al tanque externo con un anillo de caucho. Esta tapa tiene cuatro orificios por los que se introducen las unidades calorimétricas independientes. El baño está aislado por una capa de poliuretano de unos 10 cm de grosor que lo recubre totalmente.

La temperatura del baño se mantiene constante con una estabilidad de $2 \cdot 10^{-4} \text{ }^{\circ}\text{C}$. El sistema de temperatura permite trabajar en un rango entre 5 y 80 $^{\circ}\text{C}$. El funcionamiento (Figura 36) es el siguiente:

- Un termistor, situado en el tubo por el que fluye el agua desde la bomba al tanque interior, envía una señal a la unidad electrónica reguladora de temperatura, donde es comparada con un valor fijado previamente, al seleccionar la temperatura de trabajo.
- Desde esta unidad se envía una corriente eléctrica a una resistencia de calefacción situada en el tubo por el que fluye el agua desde el tanque a la bomba.

- c) En la cavidad de la bomba está situada otra resistencia eléctrica que actúa como calentador del agua alojada en este espacio.
- d) El sistema de refrigeración consiste en la circulación continua de agua a través de un serpentín situado en el interior de la cabeza de la bomba.

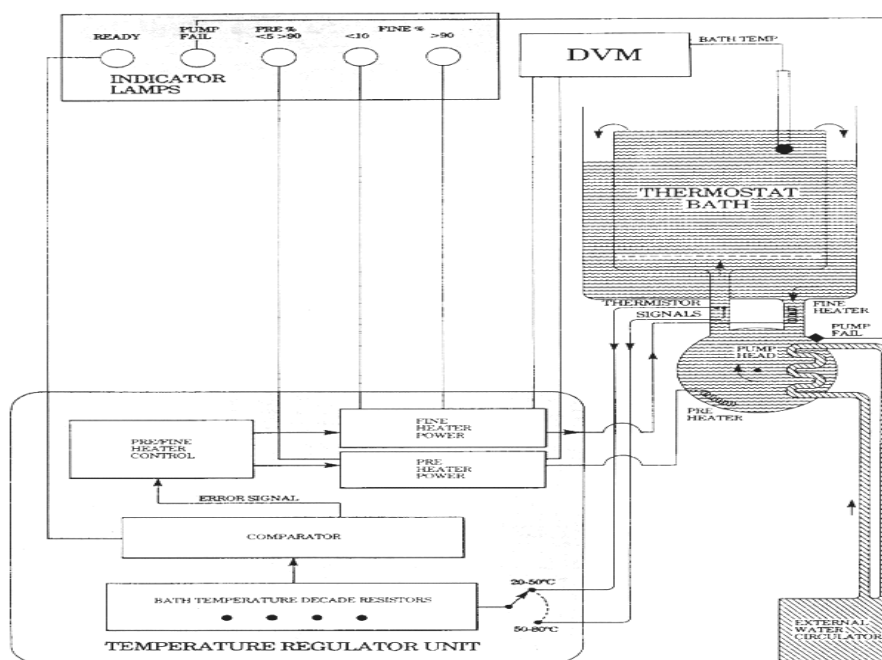


Figura 36. Esquema del baño del TAM y los diferentes sistemas de control para el mantenimiento de la estabilidad de la temperatura del mismo.

- e) El agua de refrigeración está separada del agua del termostato. La temperatura del agua en la bomba se mantiene, con una estabilidad de $\pm 0.01^{\circ}\text{C}$, uno o dos grados más baja que la del baño termostatado. La unidad electrónica reguladora de temperatura está alojada en una caja metálica que se mantiene a $40.0 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$.



Figura 37. Baño termostático SELECTA Frigiterm.

- f) Con el fin de tener la temperatura del baño lo más estable posible y reducir la fatiga del sistema termostático del microcalorímetro, el agua antes de entrar en el circuito propio del TAM pasa por un baño termostático SELECTA Frigiterm de 25l (Figura 37).

- Un cilindro, de acero inoxidable, contiene el **calorímetro** propiamente dicho y está formado por dos tubos de aluminio de 14mm de diámetro interno, que sirven como soportes (Figura 38). La zona central de la superficie externa de estos tubos tiene forma casi cúbica con el fin de conseguir un buen contacto térmico con las placas Peltier entre las que está situado cada tubo (Figura 39). El conjunto está encerrado entre bloques de aluminio que sirven como sumidero de calor. Los elementos Peltier de cada tubo están conectados entre sí en serie y en oposición con los del otro tubo, así se registra una señal diferencial de voltaje, que representa la diferencia de flujo de calor de los dos tubos, uno de los cuales contiene la muestra, sirviendo el otro como referencia. Se pueden emplear distintas vasijas, dependiendo de la muestra y del tipo de medidas que se quieran realizar. En este trabajo se utilizaron como vasijas de inserción, ampollas cerradas de acero inoxidable de 5 ml de capacidad. En estas ampollas se introdujeron 1 g de suelo a capacidad de campo y 1.25 mg de glucosa [26]. Cada experimento se repitió 4 veces. En las ampollas de referencia se introdujo 1 ml de agua destilada [27].

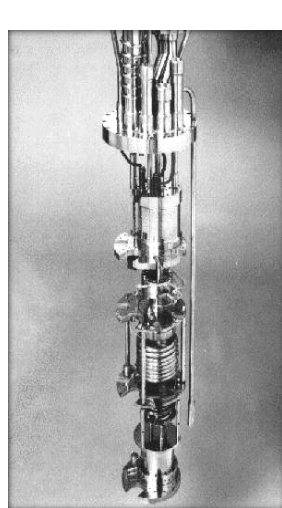


Figura 38. Detalles del soporte de las ampollas.

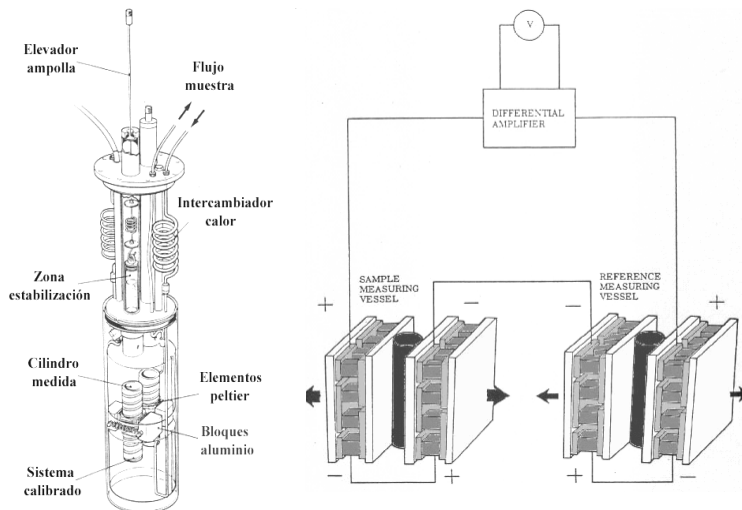


Figura 39. Detalle de la disposición de los elementos Peltier.

- **Amplificadores.** La fuerza electromotriz generada en las termopilas se amplifica, y es recogida por un ordenador conectado al aparato. El amplificador está situado en una caja que se mantiene a temperatura constante (40.0 ± 0.1 °C), que permite seleccionar la escala de medida en un rango entre 3 y 3000 μW .

- **Unidad de calibrado.** En cada uno de los cilindros de aluminio que sirven como soportes está situada una resistencia eléctrica de $50\ \Omega$ que se puede emplear para el calibrado eléctrico. El diseño y posición de la resistencia varía según el tipo de vasija de que se trate, de manera que el calibrado eléctrico simule lo mejor posible el proceso que se va a estudiar en cada caso. Desde la unidad de calibrado se selecciona y envía una corriente eléctrica que atraviesa la resistencia durante el mismo. El calibrado eléctrico es suficientemente exacto y preciso ya que tanto la intensidad de la corriente como los valores de la resistencia y el tiempo, se pueden medir con exactitud. A veces, puede no ser representativo del proceso que se quiere estudiar, porque no siempre es posible lograr un diseño ideal de la resistencia de calibrado o situarla en la posición adecuada en el calorímetro, de modo que el flujo de calor desde la vasija calorimétrica a las termopilas, sea comparativo con el flujo de calor que se produce el proceso que se está estudiando.

Si las vasijas calorimétricas son estáticas, en forma de cápsulas o ampollas, el calibrado eléctrico es suficientemente representativo, la resistencia está situada en el interior de un orificio en la base del soporte en el que se inserta la vasija, aunque sería más exacto si la resistencia del calibrado estuviese colocada en el interior de la vasija.

- El microcalorímetro se encuentra en una **habitación termostataada** a $22\ ^\circ\text{C}$ durante todo el año con el fin de optimizar su rendimiento. La tensión de corriente está controlada mediante un SAI Liebert UPStation GXT on line de 2500 W capaz de mantener durante dos horas un suministro ininterrumpido de corriente al microcalorímetro. En la Figura 40 puede verse el equipo completo utilizado en las medidas calorimétricas.



Figura 40. Microcalorímetro TAM 2277 y equipo complementario: SAI, baño termostataado, ordenador y estufa de cultivo.

Para la realización de las medidas calorimétricas, se calibraron, antes de comenzar los experimentos, los cilindros del microcalorímetro empleados para realizar las medidas. El rango de potencia seleccionado en el amplificador fue de 300 μW y el tiempo de calibrado fue de 15 minutos. El calibrado que se realizó fue el eléctrico, y la resistencia de calibrado estaba situada en un orificio practicado en la base del cilindro.

Una vez realizado el calibrado se registró la línea base del microcalorímetro durante 24 horas para comprobar su estabilidad que resultó ser de $\pm 0.2 \mu\text{W}$.

Para la detección microbiana se tomaron alícuotas de 1g de suelo, almacenado a 4 °C y llevadas a la humedad de capacidad de campo, humedad óptima para el crecimiento microbiano, y se dejaron estabilizar durante 24 horas en una estufa a la temperatura de trabajo del microcalorímetro. Después de este tratamiento, las muestras se introdujeron en el microcalorímetro en ampollas de acero inoxidable de 5ml de capacidad, herméticamente cerradas con discos de teflón para evitar procesos de evaporación en el interior del aparato. En todos los experimentos las muestras permanecieron en la posición de pre-equilibrio durante 15 minutos.

En primer lugar se establecieron las líneas base de las muestras de suelo con objeto de determinar la cantidad de calor disipado por éstas sin el aporte de una fuente de carbono. Para el estudio de la detección de la actividad microbiana del suelo se tomaron alícuotas de 1g de suelo y se enriquecieron con un volumen de 0.2 ml de una solución de glucosa.

Los estudios llevados a cabo sobre el crecimiento de microorganismos en diferentes sustratos, han demostrado que la cinética de producción de calor de un cultivo durante el crecimiento es idéntica a la cinética de aumento del número de microorganismos, y que la potencia calorífica desprendida por unidad de célula formada durante la fase de crecimiento exponencial permanece constante. Por tanto se puede determinar la velocidad específica de crecimiento a partir de la recta que se obtiene por la conversión semilogarítmica de la curva de la termogénesis.

La relación que define el incremento del número de microorganismos en relación con el tiempo, durante la fase logarítmica, se puede expresar mediante la siguiente ecuación: $\frac{dN}{dt} = \mu \cdot N$ donde N es el número de microorganismos, t el tiempo y μ la constante de velocidad de crecimiento.

Al ser ésta una ecuación diferencial de variables separables puede escribirse como:

$\frac{dN}{N} = \mu \cdot dt$ que integrada da lugar a $\ln \left[\frac{N_t}{N_0} \right] = \mu \cdot t$; donde N_0 es el número inicial de microorganismos.

Si la potencia calorífica disipada por unidad de célula formada es constante durante el crecimiento, se cumple que:

$$\ln P_t = \ln P_0 + \mu t$$

Donde P_t es la potencia calorífica disipada por el cultivo celular durante la fase de crecimiento exponencial, y P_0 la potencia calorífica al comienzo de la fase exponencial.

Si la potencia calorífica es constante durante el crecimiento de los microorganismos, al representar gráficamente el logaritmo de la potencia calorífica frente al tiempo se obtiene una línea recta cuya pendiente es $\mu / 2.303$.

2.5. Análisis térmico: DSC

La calorimetría diferencial de barrido usa el principio de balance nulo de temperatura para medir la temperatura y determinar el flujo de calor asociado con transiciones térmicas en un material. En este proceso se calcula la energía absorbida o liberada por una muestra, a partir del flujo calorífico diferencial, necesario para mantener la muestra a estudiar y otra de referencia a la misma temperatura. En la Figura 41 se muestran de forma esquemática los dos bucles diferentes sobre los que se asienta este principio de balance nulo de temperatura.

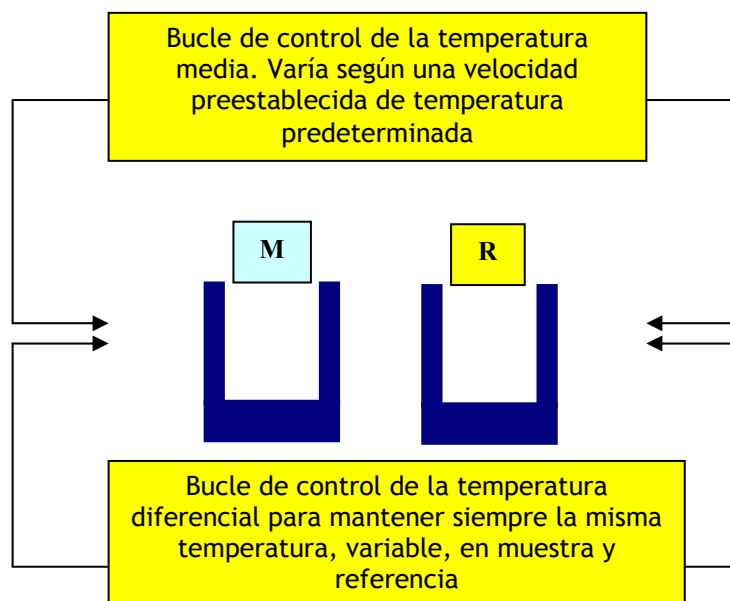


Figura 41. Principio de balance nulo de temperatura. Uno de estos bucles controla la temperatura media, de modo que las temperaturas de la muestra (M) y de la referencia (R) aumentan a una velocidad programada, que es registrada. El segundo bucle tiene como misión asegurar que, si se produce una diferencia de temperaturas entre la muestra (M) y de la referencia (R) debido a una reacción endotérmica o exotérmica en la muestra, se modifique la potencia de entrada a fin de anular esa diferencia. De este modo, las temperaturas de la muestra y la referencia se mantienen iguales, mediante un ajuste continuo y automático de la potencia calefactora. Al mismo tiempo se registra una señal proporcional a la potencia diferencial, dH/dt , obteniéndose una curva de potencia calorífica frente al tiempo o a la temperatura.

La calorimetría diferencial de barrido está basada en dos principios de construcción admitidos por la International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC) de potencia compensada y de flujo de calor. En el primer caso se usan dos hornos independientes para muestra y referencia y se mide directamente la potencia diferencial que hay que aportar o retirar a la muestra respecto a la referencia para que ambas se mantengan a la misma temperatura cuando se someten a un programa de temperatura en una atmósfera controlada (Figura 42).

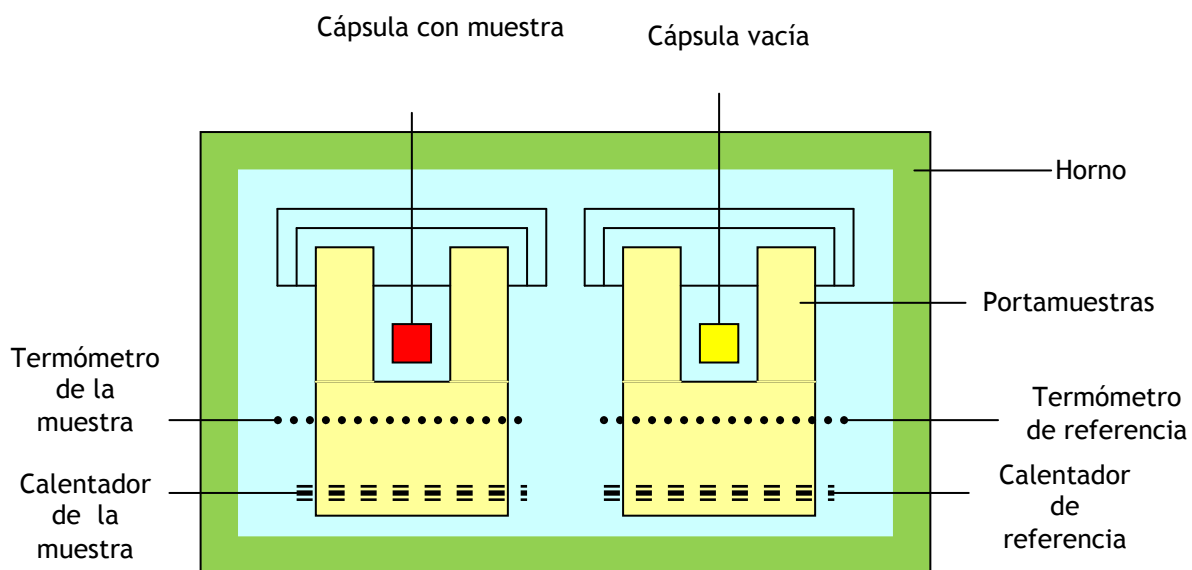


Figura 42. Diagrama esquemático del calorímetro de potencia compensada.

En el segundo caso se usa un mismo horno para la muestra y la referencia y se calcula el flujo de calor a partir de la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia cuando ambas se someten a un programa de temperatura en una atmósfera controlada (Figura 43). La calorimetría diferencial de barrido es una técnica cuantitativa que permite obtener información de la temperatura a la cual tiene lugar el cambio energético en estudio y del calor involucrado en el proceso.

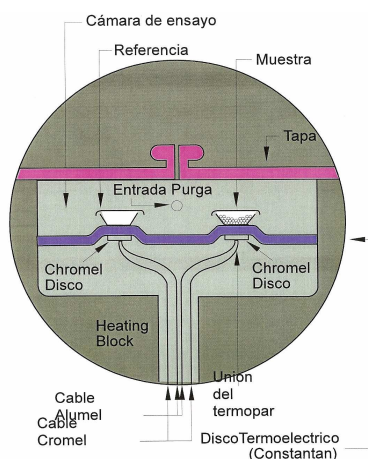


Figura 43. Diagrama esquemático del calorímetro de flujo de calor.

Todas las medidas calorimétricas llevadas a cabo en este estudio fueron realizadas con un calorímetro diferencial de barrido DSC-2910 TA-Instruments (Figura 44) [28] cuya principal característica es que se trata de un calorímetro de flujo basado en el principio de balance nulo.

Asumiendo que $(dH)_p = dQ$ y que $c_p = \frac{1}{m} \left(\frac{dH}{dT} \right)_p$ obtendríamos, despreciando los efectos cinéticos, que $\frac{dQ}{dt} = \left(\frac{dH}{dt} \right)_p = \left(\frac{dH}{dT} \right)_p \left(\frac{dT}{dt} \right) = mc_p \frac{dT}{dt}$. Donde H es la entalpía del proceso, Q el calor, c_p el calor específico a presión constante, T la temperatura, t el tiempo, m la masa, $\frac{dH}{dt}$ el flujo de calor y $\frac{dT}{dt}$ la velocidad de calentamiento.



Figura 44. Detalles del DSC-2910 TA-Instruments. En el centro y la derecha detalles del horno.

El calorímetro tiene acoplado un ordenador que controla el proceso de medida, el almacenamiento de datos y la representación gráfica en tiempo real.

Para llevar a cabo nuestras experiencias es necesario proveer al calorímetro de un circuito de aire seco, como gas de purga, cuya finalidad es mantener seca tanto la atmósfera que rodea al calorímetro como su interior.

El DSC, dispone de dos portamuestras que contienen, uno la muestra de estudio y el otro la muestra de referencia (Figura 45). Ambos portamuestras, de un centímetro de diámetro, están sobre un disco termoelectrónico de Constantan bajo el que se colocan un hilo de Chromel (Figura 43).

El flujo de calor a través del Chromel causa una diferencia de temperatura. Esta diferencia de temperatura se mide como una diferencia de voltaje entre las uniones Chromel-Constantan de muestra y referencia. El termopar de respuesta ajusta ese voltaje que es proporcional al flujo de calor.

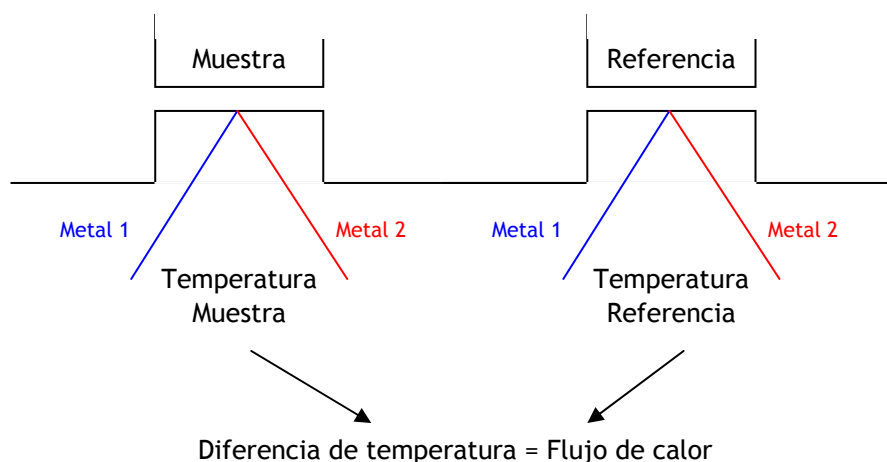


Figura 45. Esquema básico del DSC de flujo de calor.

La señal registrada es el flujo de calor, dH/dt , con respecto a la temperatura o el tiempo, obteniéndose una curva semejante a la de la Figura 46. El área encerrada bajo la curva es directamente proporcional a la energía absorbida o liberada en el proceso.

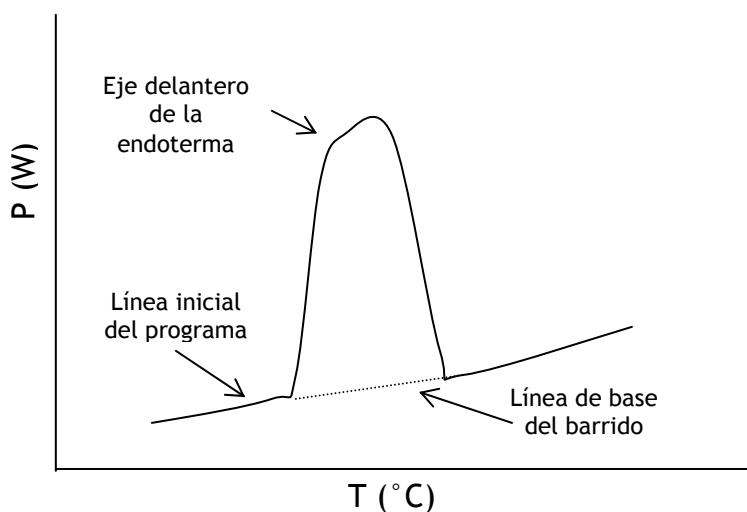


Figura 46. Curva DSC.

Los efectos térmicos, exotérmicos y endotérmicos, que tengan lugar en la muestra aparecerán en la curva DSC como picos positivos o negativos, dependiendo del criterio de signos utilizado. En nuestro caso hemos considerado que los fenómenos endotérmicos se muestren con picos positivos y los exotérmicos al contrario. Los efectos sobre o bajo una curva DSC pueden ser utilizados para calcular las entalpías o calores de

transiciones. Este cálculo se realiza integrando el pico correspondiente a una transición dada. Así, la entalpía de la transición puede ser expresada por la siguiente ecuación:

$$\Delta H = KA$$

donde ΔH es la entalpía de la transición, K es la constante calorimétrica y A es el área bajo la curva. La constante calorimétrica variará de instrumento a instrumento, y puede ser determinada analizando una muestra bien caracterizada con entalpías de transición conocidas, denominado patrón. En nuestro caso, las temperaturas de trabajo estarán por encima de la temperatura ambiente, y la recomendación del fabricante es el uso de la fusión de metales de alta pureza, como suele ser el indio (Figura 47).

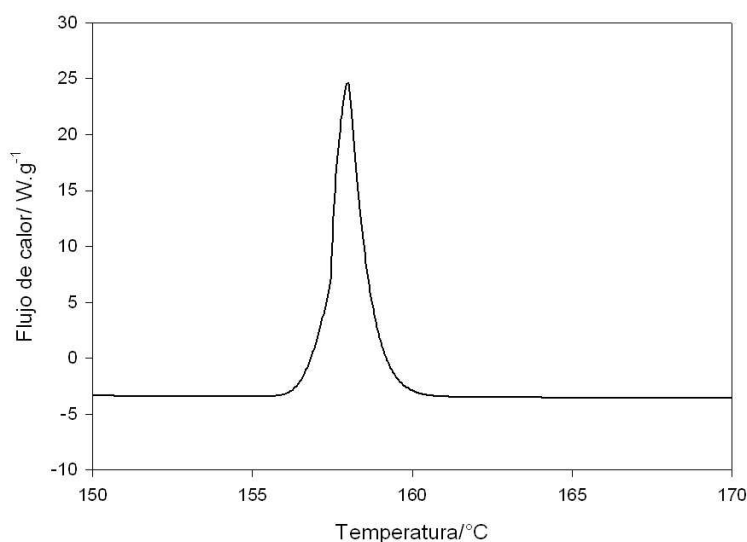


Figura 47. Pico endotérmico correspondiente a la fusión del indio.

Como se indicó anteriormente, ésta es una técnica muy versátil, y ello radica en el hecho de que permite trabajar con atmósferas tanto oxidativas como inertes, la velocidad de calentamiento (o enfriamiento) puede variar desde décimas de grado por minuto hasta valores superiores a $50\text{ }^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$; incluso existe la posibilidad de trabajar con cápsulas abiertas o cerradas en las que la presión puede ser de varias atmósferas.

En nuestro caso debido a que se pretende medir la energía liberada durante la combustión de la materia orgánica se ha utilizado atmósfera de aire seco y cápsulas abiertas. La velocidad elegida para el trabajo ha sido de $10\text{ }^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$, que es la más comúnmente usada en este tipo de análisis [29]. Asimismo se ha utilizado el intervalo de trabajo que va desde temperatura ambiente a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura a la que se considera que ya se ha consumido la totalidad de la materia orgánica [29].

Antes de calibrar el DSC, se debe realizar una línea base [28]. Para ello, y con los dos crisoles vacíos, se registran los valores de potencia diferencial frente a la temperatura en las mismas condiciones experimentales en las que se vayan a realizar los experimentos (rango de temperaturas, velocidad de calentamiento, flujo de gas de purga, etc.). Estos valores se guardan en un fichero y serán restados automáticamente de las potencias correspondientes al mismo valor de la temperatura, cancelándose así la posible respuesta asimétrica de los portamuestras que pueda falsear las medidas [30].

Tanto la temperatura como la potencia (dH/dt) se determinan mediante constantes de proporcionalidad. El valor de estas constantes depende de muchas variables y la mejor forma de determinarlas es mediante un calibrado. Para ello, se utilizan compuestos llamados estándares que poseen propiedades adecuadas para dicha finalidad [31-33], es decir, tienen transiciones características a una temperatura dada y con calores de fusión conocidos y fácilmente reproducibles.

En nuestro caso, como ya se ha comentado, hemos empleado para el calibrado una sustancia estándar: indio de gran pureza. La transición de fase (fusión) que se produce en el indio a 156.6 °C, da lugar a un calor absorbido por la muestra de 28.47 Jg⁻¹, permitiendo el calibrado del equipo tanto en temperatura como en energía (Figura 47).

Posteriormente al calibrado del equipo, también hay que ajustar una serie de parámetros opcionales de los cuales dependen los resultados, ya que su influencia puede ser cualitativamente muy diferente [30] y lo que interesa es la reproducibilidad de los resultados. Los parámetros más importantes a tener en cuenta son: la velocidad de calentamiento y la masa de la muestra, que afectan a la sensibilidad y a la resolución del calorímetro pudiendo sumar o compensar sus efectos, y la atmósfera del horno. Dado que se pretende obtener la energía liberada en la combustión, en todos los experimentos se utilizó aire seco como gas de purga con un caudal de 25 mlmin⁻¹.

Antes de comenzar con las medidas en el DSC, las muestras de suelo se secaron en una estufa a 80 °C durante más de 4 horas y se molieron finamente en un mortero de ágata.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado usando un DSC-2910 TA-Instruments. Las curvas fueron obtenidas en unas condiciones de trabajo perfectamente definidas: un flujo de aire seco de 25 mlmin⁻¹ a una velocidad de barrido de 10 °Cmin⁻¹, usando muestras de 10 a 30 mg de suelo dentro de cápsulas de aluminio abiertas, y en un rango de temperaturas de 50 a 600 °C.

La temperatura de ignición (T_{ing}), temperatura a la que comienza la degradación térmica de la materia orgánica del suelo, y el calor de combustión (Q_{DSC}) de la materia

orgánica del suelo (en Jg^{-1} de suelo seco) se calcularon directamente a partir de la integración directa de las curvas de DSC de las muestras de suelo seco [25]. Estos dos parámetros nos aportan información acerca de la capacidad potencial de degradación térmica de los suelos [34, 35, 25, 29]. A partir de la pérdida de masa (Δm) en la muestra de suelo como consecuencia de la combustión de la materia orgánica dentro del calorímetro, y el calor de combustión de la misma (Q_{DSC}), se puede determinar el calor de combustión por gramo de materia orgánica (en Jg^{-1} de materia orgánica) usando la siguiente relación:

$$Q' = \frac{Qm_s}{\Delta m}, \text{ donde } m_s \text{ es la masa de la muestra antes de la experiencia de DSC.}$$

En la Figura 48 se puede ver la curva de un suelo forestal obtenida por DSC con sus tres picos característicos. El primer pico endotérmico es debido a la pérdida de agua y sustancias volátiles. El segundo pico, exotérmico y en un rango de temperatura de 220 a 550 °C aproximadamente, es debido a la combustión de la materia orgánica presente en el suelo. Este pico se puede considerar como el solapamiento de dos reacciones exotérmicas debidas a la descomposición y combustión de los diferentes componentes presentes en la materia orgánica y con estabilidades térmicas muy diferentes: el primero de ellos (Exo 1) presenta un mínimo a 320 °C y se debe a la descomposición de la mayoría de los compuestos termolábiles, básicamente compuestos alifáticos como celulosa, holocelulosa, ácido fúlvico, azúcares simples y la descarboxilación de los grupos carboxílicos [35], y el segundo, (Exo 2) que presenta el mínimo entre 380 y 400 °C, debido a la descomposición del resto de los materiales termolábiles, principalmente componentes aromáticos como ácidos húmicos y lignina [34]. El tercer pico, endotérmico a 570 °C aproximadamente, se debe a la transformación polimórfica del cuarzo [36].

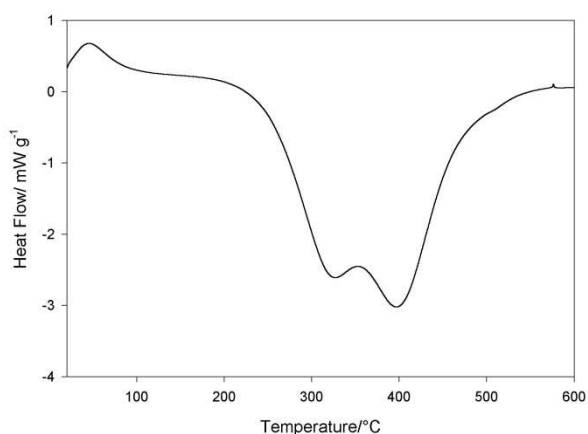


Figura 48. Termograma para un suelo forestal obtenido en un DSC en el que se pueden observar sus tres picos característicos [28].

2.6. Análisis térmico: TG

El sistema de análisis térmico TGA7 de Perkin Elmer [37], permite cuantificar el cambio de masa que experimenta una muestra como función de la temperatura o del tiempo. Está compuesto por un analizador termogravimétrico, un controlador del sistema y un registro gráfico (Figura 49). El analizador se compone de dos elementos:

- Una microbalanza electrónica, que se basa en el sistema de balance nulo, para lo que utiliza un motor de torsión servo-controlado para compensar los cambios de masa. La potencia eléctrica necesaria para mantener el sistema en el balance nulo es directamente proporcional al cambio de masa de la muestra. Es extremadamente sensible, pudiendo detectar variaciones de 0.1 μg con una capacidad máxima de 130 mg. Cuando una muestra se coloca en el portamuestras, su soporte se desvía y un detector de la desviación mide su posición por medio de un sensor óptico. Para que el soporte retorne a su posición original, se necesita un suministro de corriente eléctrica y la cantidad de corriente necesaria para esto nos permite conocer la variación de la masa de la muestra.
- Un horno, que permite trabajar en un rango muy amplio de temperaturas (desde la temperatura ambiente hasta 900 °C) y con velocidades de calentamiento muy distintas (entre 0.1 °Cmin⁻¹ y 200 °Cmin⁻¹) en incrementos de 0.1 °Cmin⁻¹. Se trata de un horno de pequeño tamaño que está recubierto de platino para favorecer que los calentamientos y enfriamientos sean rápidos (hasta 200 °Cmin⁻¹) y que los tiempos entre ensayos se acorten. Esto es posible gracias a un calentador y un termostato, que detecta su propia temperatura y suministra energía suficiente para calentar la muestra con gran precisión y sensibilidad en el control de la temperatura. A lo largo de todo el ensayo un termopar de cromel-alumel situado en la base del horno proporciona las medidas de temperatura.



Figura 49. Foto TG. Se puede observar en detalles la TG con el ordenador, el horno, y la cápsula de aluminio abierta en donde se introduce la muestra.

El calibrado de la termobalanza se ha realizado siguiendo minuciosamente las instrucciones suministradas por Perkin-Elmer en la rutina Calibration Program con sus patrones de calibrado. Para realizar un completo calibrado del equipo hay que realizar tres calibrados:

- **Calibrado del horno:** realizado automáticamente por el equipo entre el límite de las dos temperaturas a las que se llevan a cabo los experimentos.
- **Calibrado de la temperatura:** consiste en utilizar las temperaturas de los puntos de Curie, T_c , (temperatura por encima de la cual un material ferromagnético pierde su magnetismo, convirtiéndose en paramagnético) de distintos metales y aleaciones. En este trabajo se emplearon dos aleaciones, el alumel ($T_c=163\text{ }^{\circ}\text{C}$) y el perkalloy ($T_c=596\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- **Calibrado en peso:** permite calibrar el eje de coordenadas de la TGA7 utilizando un patrón de 100 mg.

En termogravimetría existen numerosos factores que afectan a la naturaleza, precisión y exactitud de los resultados, principalmente debido a la naturaleza dinámica del cambio de temperatura de la muestra. Entre estos factores caben destacar la velocidad de calentamiento (tiene una gran influencia en la forma del termograma, principalmente en lo que se refiere a la determinación de las temperaturas inicial, T_i , y

final, T_f , de la reacción), la atmósfera del horno y la masa de la muestra [38, 39], por ser los que más modifican las curvas termogravimétricas.

Como ya se ha explicado, una curva termogravimétrica refleja el cambio de masa que experimenta una muestra frente a la temperatura o al tiempo. En la Figura 50 se muestra una curva termogravimétrica de un único escalón. La reacción se distingue por dos temperaturas características, T_i y T_f . T_i es la temperatura previa a la descomposición, es decir, la temperatura más baja a la cual la aparición (onset) de un cambio de masa es detectable, bajo unas determinadas condiciones experimentales, y T_f es la temperatura final, es decir, la temperatura más baja a la que el proceso de pérdida de masa ha acabado.

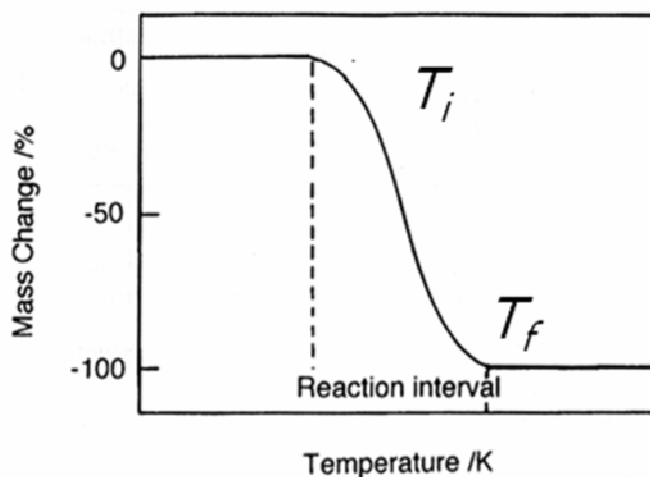


Figura 50. Curva típica de un proceso de termodegradación con un único escalón de descomposición [29].

La pérdida porcentual de masa, M_L , que se define como positiva, viene dada por la siguiente expresión:

$$M_L = \frac{m_i - m_f}{m_i} 100$$

siendo m_i y m_f las masas correspondientes a las temperaturas T_i y T_f . Tras la reacción de descomposición aparece un residuo que puede ser cuantificado a través de la siguiente expresión:

$$R = \frac{m_f}{m_i} 100$$

La derivada de un termograma es una función muy utilizada, y permite conocer la velocidad de pérdida de masa y la temperatura a la cual la velocidad del proceso de termodegradación es máxima.

La velocidad de pérdida de masa se expresa matemáticamente como función del tiempo:

$$\frac{dm}{dt} = f(t)$$

o, menos frecuentemente, como función de la temperatura:

$$\frac{dm}{dT} = f(T)$$

En cualquiera de los casos, se obtiene una serie de picos cuyas áreas son proporcionales al cambio total de masa. La meseta de la curva original corresponde a la zona horizontal de la curva derivada en la que $\frac{dm}{dT} = 0$. En la curva derivada, se obtiene un máximo cuando la curva original tiene un punto de inflexión.

Tanto la curva original como la derivada, ofrecen la misma información si se obtienen bajo las mismas condiciones experimentales [40]. Sin embargo, Newkirk [40] encontró las siguientes diferencias entre ambas: la curva derivada es más precisa ya que muestra el *onset* de la reacción acompañado de una pequeña pérdida de masa y, además permite determinar de modo exacto la temperatura de la reacción de forma mejorada. Algunos autores consideran este último punto como la ventaja más relevante del método.

Los principales tipos de curvas termogravimétricas se muestran en la Figura 51.

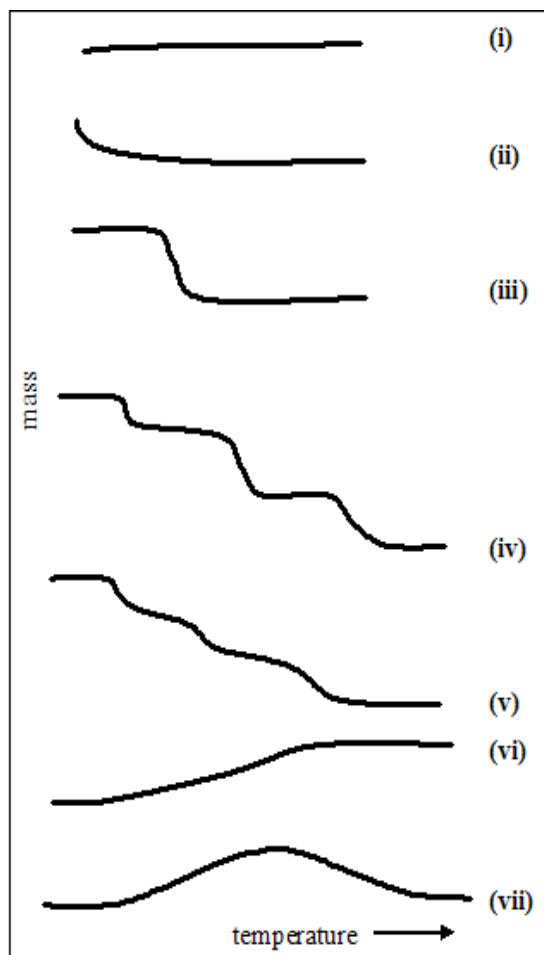


Figura 51. Principales tipos de curvas termogravimétricas (del Hatakeyama) [29].

- Tipo (i). La muestra no sufre descomposición con pérdida de productos volátiles en el rango de temperatura mostrado. Pudiera ocurrir reacciones tipo: transición de fase, fundido, polimerización.
- Tipo (ii). Una rápida pérdida de masa inicial es característica de procesos de desorción o secado.
- Tipo (iii). Esta curva representa la descomposición de la muestra en un proceso simple. La curva se puede utilizar para definir los límites de estabilidad del reactante, determinar la estequiometría e investigar la cinética de las reacciones.
- Tipo (iv). Se indica una descomposición multietapa con intermedios relativamente estables. Se puede definir los límites de estabilidad del reactante e intermedios, y de forma más compleja la estequiometría la reacción.
- Tipo (v). También indica una descomposición multietapa, pero los productos intermedios no son estables, y poca información se obtiene de la estequiometría de la reacción.
- Tipo (vi). Se observa una ganancia de masa como consecuencia de la reacción de la muestra con la atmósfera que la rodea.
- Tipo (vii). El producto de una reacción de oxidación se descompone a temperaturas más elevadas: $2 \text{ Ag} + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow \text{Ag}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{ Ag} + \frac{1}{2} \text{ O}_2$

En nuestro caso, como se verá más adelante, hemos obtenidos curvas de termodegradación con más de un escalón, y en las que las temperaturas de inicio y final de los proceso principales de descomposición no están claras (tipo V). En estos casos, para determinar de manera más precisa los intervalos de temperaturas en los que se producen dichos procesos de termodegradación, es más habitual analizar las curvas derivadas y, posteriormente, sobre la curva original obtener la pérdida de masa asociada a los mismos.

El estudio de los diferentes tipos de suelos, y más concretamente el contenido en materia orgánica, se realizó mediante ensayos dinámicos. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Antes de introducir las muestras de suelo en la TG, entre 2 y 15 mg, se secaron y molieron en un mortero de ágata. Los experimentos dinámicos se llevaron a cabo a la velocidad de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, en un intervalo de temperaturas de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ a $800 \text{ }^\circ\text{C}$, y con un flujo de aire de 20 ml min^{-1} . El porcentaje de materia orgánica quemada fue calculado a partir de las curvas de termodegradación y

expresado como peso total porcentual perdido (ΔY_{TOTAL}) asociado a una descomposición térmica entre las temperaturas T_i y T_f [29].

A partir de la pérdida de masa asociada al proceso de degradación en atmósfera de aire, se puede determinar el contenido de materia orgánica del suelo que se ha quemado durante el ensayo. Como se verá más adelante, en el análisis de los resultados obtenidos se observó en muchos casos más de un escalón de termodegradación (varios picos en la curva derivada) lo que se puede asociar a contenidos de materia orgánica del suelo con diferente estabilidad térmica, por ir asociados a diferentes intervalos de temperaturas de combustión, ΔY_1 y ΔY_2 en nuestro caso.

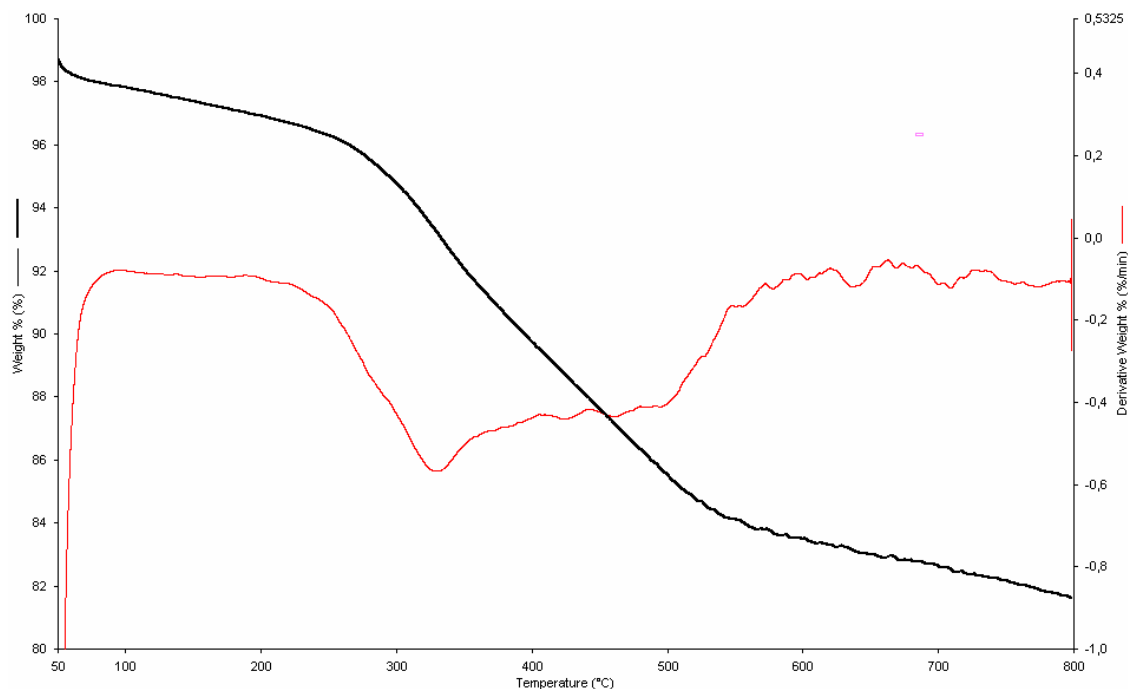


Figura 52. Curvas TG y DTG para una muestra de suelo de cultivo durante el invierno.

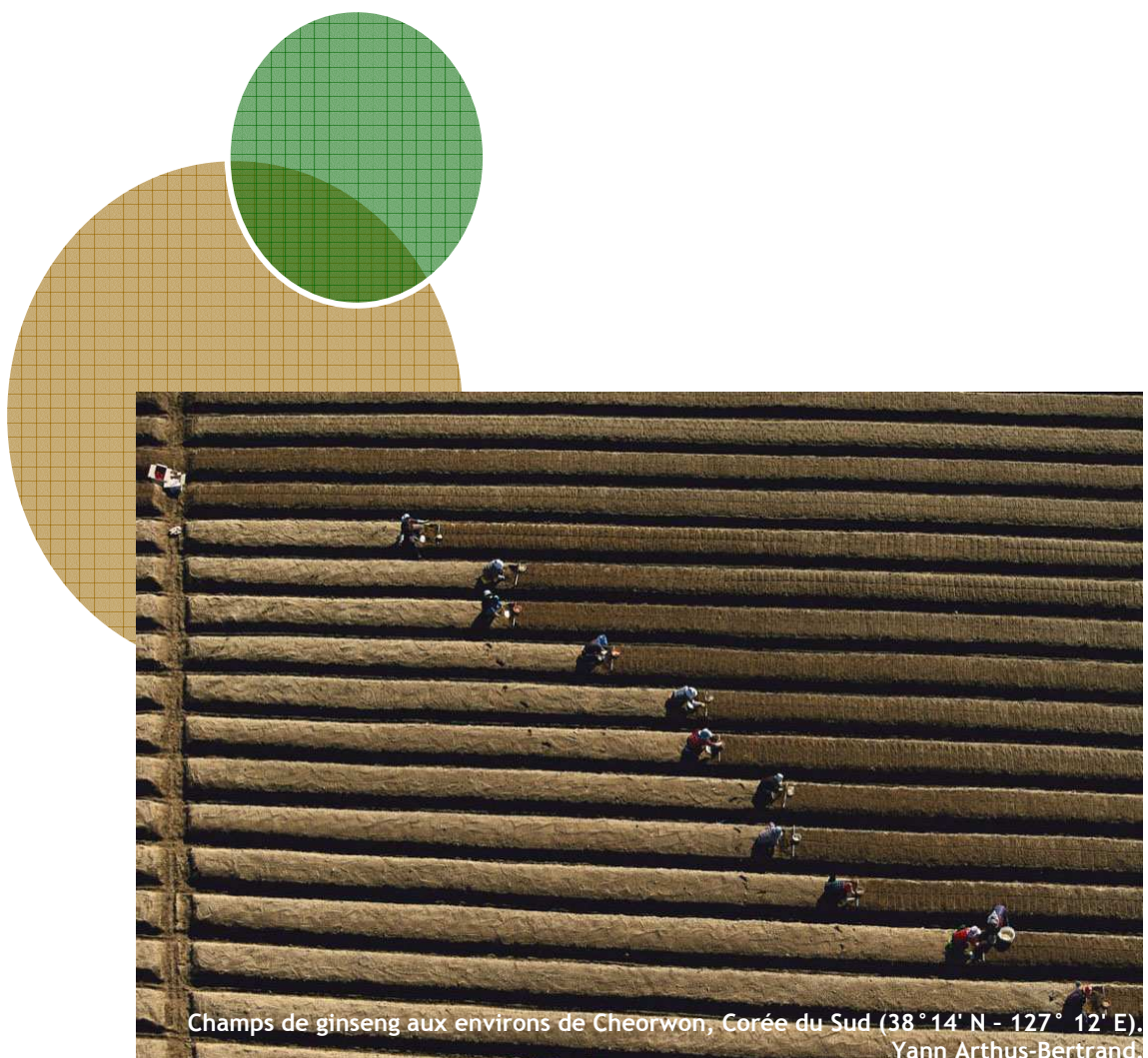
En la Figura 52 se muestra una curva termogravimétrica típica (TG) y su derivada (DTG) de una muestra de suelo de cultivo. En ella se puede analizar la pérdida de peso de la muestra de suelo debida al calentamiento frente a la temperatura. Destacar la gran pérdida de peso entre 200 y 600 °C, que concuerda con el rango de temperaturas determinado mediante DSC para la combustión de la materia orgánica de este suelo. Por lo tanto, esta pérdida de peso producida en la muestra entre las temperaturas mencionadas, después de una experiencia en la TG, es igual al contenido en materia orgánica (%) en la muestra de suelo antes del calentamiento.

2.7. Bibliografía.

- [1] Montero de Burgos, J. L., González Rebollar, J. L. Diagramas Bioclimáticos. Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza. Madrid (1973)
- [2] <http://www2.meteogalicia.es/galego/observacion/estacions/estacions.asp?idEst=10162&idprov=1>
- [3] Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín-Castiñeiras, J., Núñez-Fernández, O., Villanueva, M. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 115 (2006)
- [4] Petersen, R. G., Calvin, L. D. Sampling. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*. Second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI. (1998)
- [5] Tan K. H. *Soil Sampling, Preparation, and Analysis*. Marcel Dekker. New York (1996)
- [6] Gardner, W. H. Water content. In: Klute A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*. Second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [7] Lamprecht, I. Combustion calorimetry. In: Kemp, R.B. (Ed.). *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. Elsevier. Amsterdam (1999)
- [8] Núñez L., Barros N., Barja I. *Journal of Thermal Analysis*, 41, 1379 (1994)
- [9] Gee G. W., Bauder J. W. Particle-size analysis. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*. Second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [10] Grissinger E. H., Oster J. D., Shainberg, I., Abrol P. Part III: soil rehabilitation. In: Agassi, M. (Ed.). *Soil Erosion, Conservation, and Rehabilitation*. Marcel Dekker. New York (1996)
- [11] Thomas G. W. Soil pH and soil acidity. In: Sparks, D.L. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 3 Chemical Methods*. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1996)
- [12] Ljungholm, K., Norén, B., Sköld, R., Wadsö I. *Oikos*, 33, 15 (1979)
- [13] Cassel, D. K., Nielsen, D. R. Field capacity and available water capacity. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*. Second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [14] Boyoucos, G. I. *Agronomy Journal*, 54, 623 (1962)
- [15] Blake G. R., Hartge K. H. Particle density. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [16] Danielson R. E., Sutherland P. L. Porosity. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [17] Klute, A., Dirksen, C. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [18] Blake, G. R., Hartge, K. H. Bulk density. In: Klute, A. (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison. WI (1998)
- [19] <http://imaisd.usc.es/riaidt/analisis.asp>
- [20] http://imaisd.usc.es/riaidt/raiosx/descrip_fluo.html
- [21] Cochran, W. G. *Biometrics*, 6, 105 (1950)
- [22] Wollum, A. G. *Methods of Soil Analysis. Part 2* (A.L. Poge, ed.). Am. Soc. Agron. Madison (1982)
- [23] Pochon, J., Tardieux, P. *Techniques d'analyse en microbiologie du sol*. La Tourelle. St. Mandé (1962)
- [24] Knapp, E. B., Elliot, L. F., Campbell, G. S. *Soil Biology & Biochemmistry*, 15, 455 (1983)
- [25] Salgado, J., Proupín, J., Villanueva, M., Rodríguez-Añón, J. A., Barros, N. *Journal of*

- Thermal Analysis and Calorimetry, 99, 911 (2010)
- [26] Barja, I., Núñez, L. Soil Biology & Biochemistry, 31, 441 (1999)
- [27] Núñez, L., Barros, N., Barja, I. Thermochimica Acta, 237, 73 (1994)
- [28] Dodd, J. W., Tongue, K. Thermal Methods. Wiley/Interscience. London (1987)
- [29] Salgado, J., Mato, M. M., Vázquez-Galiñanes, A., Paz-Andrade, M. I., Carballas, T. Thermochimica Acta, 410, 41 (2004)
- [30] Hatakeyama, T. and Quinn, F. X. Thermal Analysis. John Wiley & Sons. Chichester (1994)
- [31] Wendlandt, W. W. Thermal Analysis. John Wiley & Sons. New York (1986)
- [32] Wunderlich, B. Thermal Analysis. Academic Press Inc. San Diego (1990)
- [33] Höhne, G.W.H. Journal of Thermal Analysis, 37, 1987 (1991)
- [34] Rovira, P., Kurz-Besson, C., Couteaux, M. M., Vallejo, V. R., Soil Biology & Biochemistry, 40, 172 (2008)
- [35] Dell'Abate, M. T., Benedetti, A., Brookes, P. C. Journal of Separation Science, 26, 433 (2003)
- [36] Barros, N., Salgado, J., Feijóo, S. Thermochimica Acta, 458, 11 (2007)
- [37] Users Manual, 1020 Series TGA7. Thermal Analysis System. The Perkin Elmer Corporation (1993)
- [38] Wendlandt, W. W. and Simons, E. L. Thermochimica Acta, 3, 171 (1972)
- [39] Criado, J. M. and Morales, J. Thermochimica Acta, 23, 257 (1978)
- [40] Nerwick, E. and Simons, E. L. Talanta, 13, 1401 (1966)

Capítulo 3. Presentación y discusión de los resultados.



Capítulo 3. Presentación y discusión de los resultados.

3.1. Datos de ambiente físico	91
3.2. Datos básicos de los suelos	94
3.3. Estudio de las propiedades físico-mecánicas	96
3.4. Estudio de las propiedades químicas de los suelos	101
3.5. Estudio del número más probable de microorganismos (NPM)	117
3.6. Estudios de calorimetría y análisis térmico	119
3.6.1. Resultados de las experiencias realizadas mediante DSC	119
3.6.2. Resultados de las experiencias realizadas mediante TG	123
3.6.3. Resultados de las experiencias realizadas mediante TAM	129
3.7. Bibliografía	134

- Tiene una influencia marítima directa sobre las temperaturas, y una situación de abrigo con relación a las corrientes del SO.
- La media de temperaturas anual es la más fresca de todo el litoral gallego y la oscilación estacional la más baja de toda Galicia.
- Los meses más fríos tienen una temperatura media de entre 7 y 8 °C y en verano rondan los 18 °C.



Aunque podemos definir el clima de la zona de muestreo como suave, el contraste océano/continente es capaz de transformar los caracteres propios de la circulación atmosférica haciendo que a principios de la mañana se acelere la circulación atmosférica hacia la meseta lucense de modo que a mediodía se alcancen valores moderados de temperatura. De la misma forma, esta circulación atenúa los contrastes térmicos y tiende a aumentar la nubosidad, haciendo que la oscilación térmica diurna en días despejados sea menor de 10 °C y en días nublados oscile entre 1 y 4 °C.

Además, la divisoria de aguas del Alto Miño dificulta la penetración de las corrientes húmedas del SO, y de contención de los flujos inestables del N con la influencia consiguiente en las precipitaciones. Así, en la zona más litoral, las precipitaciones anuales son de menos de 1250 mm y con frecuencia de menos de 1000 mm, aumentando hacia el interior hasta unos niveles inferiores a 1560 mm. Los días de lluvia son cercanos a los 130 al año convirtiendo esta parte del litoral en la de menos jornadas lluviosas. En el verano, el descenso de las precipitaciones puede provocar episodios de semiaridez.

Tal y como comentamos en el capítulo anterior, en la Tabla 2 se recogen los datos de los principales parámetros climáticos de la zona en donde se realizó la toma de muestras de los diferentes suelos. Todos estos datos, recopilados a lo largo de los últimos 5 años, dan lugar a un diagrama bioclimático típico de un clima suave perteneciente a la región eurosiberiana y una clasificación biogeográfica [1-4] conocida como Costa Norte.

Los resultados más destacables que podemos extraer de los datos mostrados en la Tabla 2 son los siguientes:

- **La continua disponibilidad hídrica y una temperatura media siempre superior a los 7.5 °C.** Estos dos parámetros aseguran una actividad vegetativa continua a lo largo del año por parte de los vegetales tal y como se puede comprobar en la Figura 54 analizando la evolución de la IBP. Estas temperaturas medias cercanas a los 14 °C a lo largo de todo el año, unidas a las lluvias frecuentes y constantes favorecen los procesos de intemperismo en el suelo, entre ellos la degradación de la materia orgánica. Estas características climáticas tan peculiares favorecen el desarrollo de las especies típicas del bosque caducifolio y por lo tanto una elevada tasa de generación de residuos forestales.
- **Unas precipitaciones bajas pero estables que aseguran la disponibilidad de agua para el suelo y los vegetales en crecimiento activo que soporta.** A pesar del elevado ritmo de descomposición y mineralización que se genera en estas condiciones tan adecuadas de temperatura y humedad, en el balance final se produce una acumulación de carbono orgánico en el suelo, que en determinados horizontes superficiales puede llegar a superar el 5 %. Aunque esta acumulación de materia orgánica influye positivamente en las propiedades físicas y químicas del suelo, también puede llegar a favorecer el incremento de

carga crítica de algunos tóxicos como compuestos orgánicos y metales, que comentaremos más adelante en este capítulo.

Por otra parte, en la Figura 54 se puede realizar un seguimiento de la evolución de la IBP a lo largo del año y ver cómo desde el mes de mayo hasta octubre e incluso en noviembre, la potencialidad productiva de las formaciones vegetales es elevada y no existen parámetros climáticos que limiten la actividad vegetativa, es decir, condiciones muy favorables para la actividad de la fase viva del suelo. De todas formas la IBP a lo largo del año nunca se ve limitada ni por temperatura ni por disponibilidad hídrica.

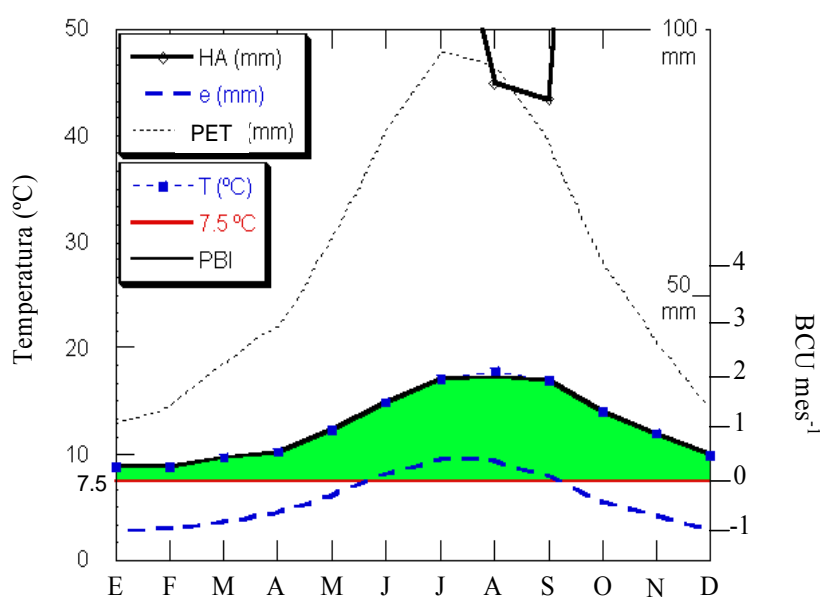


Figura 54. Diagrama bioclimático de la zona de muestreo. Se analizan conjuntamente la temperatura (T), la disponibilidad hídrica (HA), evapotranspiración potencial (ETP), evapotranspiración potencial residual (e), la intensidad bioclimática potencial (PBI). El 7.5 °C representa la temperatura mínima para que los vegetales tengan actividad vegetativa, las BCU son unidades bioclimáticas mes⁻¹. El área coloreada de verde representa la potencialidad productiva.

A la vista del diagrama bioclimático se puede deducir que la productividad de los suelos estudiados, y por lo tanto su población microbiana, en ningún momento a lo largo del año debería estar limitada por la temperatura o por la disponibilidad hídrica. Destacar que durante el periodo que va desde el mes de abril a noviembre, y más concretamente de junio a septiembre, se alcanzan los máximos de intensidad bioclimática potencial. Por lo tanto, e incidir nuevamente en el caso de los suelos estudiados, los parámetros bioclimáticos no deberían limitar la evolución de la población microbiana excepto en episodios anuales diferentes a los habituales, y que podrían darse en los primeros meses del invierno por temperaturas excesivamente bajas, o en verano en caso de una época de sequía intensa.

3.2. Datos básicos de los suelos.

La Tabla siguiente muestra otros parámetros de interés para el estudio de los suelos determinados *in situ* durante los cuatro muestreos realizados a lo largo del año.

Tipo suelo	Estación	pH	Hs (%)	Ha (%)	Ts (°C)	Ta (°C)	P (°- %)
Pastizal	Primavera	5.0 FA	23.98	60.1	16.5	19.4	5-11.11
	Verano	4.8 FA	7.87	55.2	21.1	27.2	5-11.11
	Otoño	4.7 FA	28.82	61.2	13.6	16.4	5-11.11
	Invierno	5.2 A	39.10	52.5	8.2	9.7	5-11.11
Cultivo	Primavera	5.5 A	31.63	53.5	17.4	24.0	11-24.44
	Verano	5.8 MA	17.26	51.5	18.5	29.3	11-24.44
	Otoño	5.6 MA	30.15	51.3	13.2	17.1	11-24.44
	Invierno	5.9 MA	31.30	57.2	7.7	8.5	11-24.44
Eucaliptal	Primavera	4.3 EA	34.62	55.5	14.9	22.5	13-28.88
	Verano	4.4 EA	14.36	53.2	18.2	28.4	13-28.88
	Otoño	4.4 EA	25.50	65.2	14.0	16.1	13-28.88
	Invierno	3.8 EA	40.10	57.0	8.9	7.9	13-28.88
Pinar	Primavera	4.5 FA	31.40	50.8	13.9	23.5	13-28.88
	Verano	4.5 FA	20.42	51.6	19.5	28.1	13-28.88
	Otoño	4.3 EA	30.92	71.2	13.8	14.8	13-28.88
	Invierno	4.7 FA	28.60	56.8	7.8	9.0	13-28.88

Tabla 4. Parámetros de interés: pH, humedad, temperatura y pendiente. Abreviaturas utilizadas: Hs (humedad del suelo, %) Ha (humedad ambiental, %), Ts (temperatura suelo, °C), Ta (temperatura ambiental, °C), y P (pendiente de la zona, °-%). Clasificación del pH [5]:

- **pH<4.5** extremadamente ácido (EA): condiciones muy desfavorables.
- **4.5<pH<5.0** fuertemente ácido (FA): posible toxicidad del Al³⁺.
- **5.1<pH<5.5** ácido (A): exceso Co, Cu, Fe, Mn y Zn y deficiencia de Ca, K, N, Mg, Mo, P y S. Suelos sin carbonato cálcico, actividad bacteriana escasa. El hormigón ordinario es atacado.
- **5.6<pH<6.0** medianamente ácido (MA): adecuado para la mayoría de los cultivos.

El carácter lluvioso propio de la zona de muestreo hace que los suelos evolucionen hacia un pH ácido como consecuencia del fenómeno de la lixiviación producida por la lluvia favoreciendo la disolución de las sales solubles presentes en el suelo, y haciendo que se disuelvan no sólo los minerales, sino también las bases, como es el caso de los cationes no ácidos como el calcio. Este carácter ácido de la superficie se puede extender a todo el perfil en profundidad como consecuencia de la actuación combinada de los fenómenos de eluviación e iluviación a lo largo del tiempo. Esta acidez actúa

como elemento limitante para muchos cultivos, pero no afecta a la producción forestal. Esto se puede observar en la Tabla 4, en donde los valores de pH más bajos y estables a lo largo del año coinciden con las zonas de eucalipto y pino. En condiciones normales los suelos sobre los que se desarrollan especies forestales de porte importante suelen mantener un pH moderadamente ácido bastante estable a lo largo del año. Se puede observar cómo el suelo de cultivo tiene los valores de acidez más bajos. La explicación a esta diferencia es el uso tradicional que se hace en Galicia de enmiendas, especialmente cal, para poder mejorar la productividad. Un pH muy ácido puede provocar toxicidades de manganeso, zinc, aluminio y hierro.

Como curiosidad mencionar que durante el estudio tuvimos una época de pocas lluvias, punto que se pone de manifiesto en unas humedades medias propias del suelo entre un 15 y un 20 % más bajas de lo habitual. En condiciones de acidez se genera un aumento en la concentración de aluminio y manganeso solubles, y esto genera una deficiencia en el crecimiento de las raíces. Normalmente los pH bajos favorecen la aparición de niveles tóxicos de iones solubles en la solución del suelo generando un descenso en la productividad del suelo. En la Figura 55 se puede observar la asimilabilidad de los diferentes elementos esenciales para las plantas en función del pH de la solución del suelo [5].

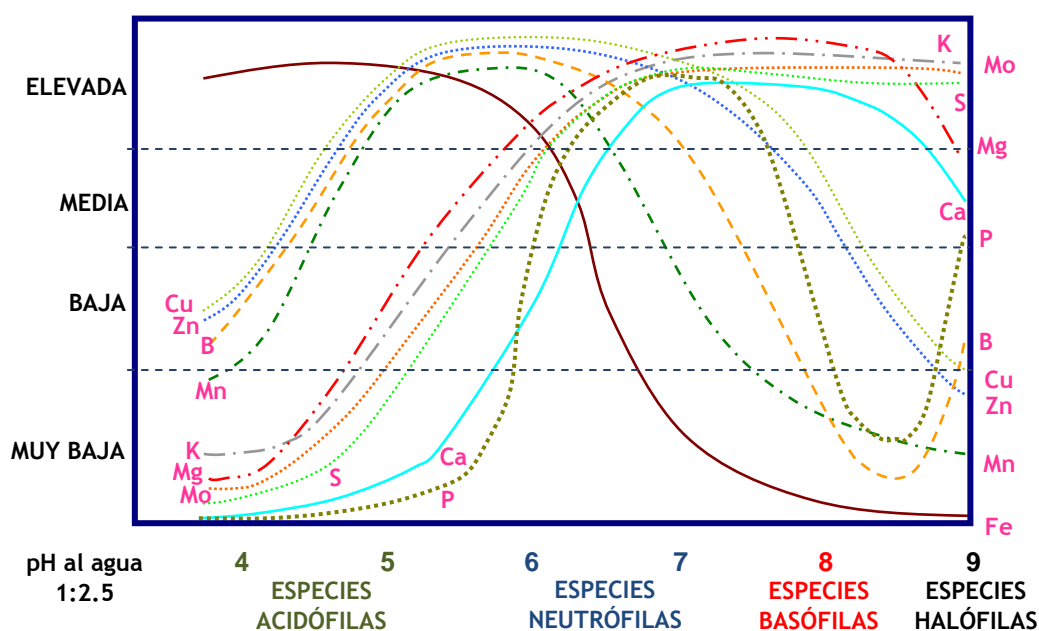


Figura 55. Evolución de la asimilabilidad de los distintos elementos nutritivos presentes en el suelo según el pH del mismo, y la adaptación de las especies vegetales a las diferentes condiciones [5].

Existen otros procesos que pueden generar variaciones temporales del pH como son el uso de amoníaco como fertilizante (puede disminuir el pH), o el abuso que en

Galicia se está haciendo actualmente del purín, y que está generando un cambio importante en el carácter ácido de los suelos aumentando su pH.

Los suelos de esta zona suelen generarse y evolucionar sobre materiales sedimentarios comprendidos entre Fluvisoles úmbricos y dístricos (FLu-FLd), y Cambisoles húmicos y gleicos (CMu-GLu). Los primeros derivados de materiales aluviales recientes con poca evolución, y los segundos con un escaso desarrollo de horizontes B cámbicos siendo el perfil característico el AC [6].

También podemos encontrar suelos desarrollados a partir de calizas como los Cambisoles húmicos y eutricos (CMu-CMe), y que son los más abundantes en Galicia. Este tipo de suelos evolucionaron a partir de rocas hasta el estado B cámbico, y en ellos se da una inexistencia de otros horizontes en los primeros 50 cm. Poseen contenidos elevados de arcillas, tal y como se puede ver en la Tabla 5.

En esta zona, tal y como constatamos durante el estudio de la textura y estructura del suelo (Tabla 5), hay una presencia importante de pizarras y filitas. Este tipo de materiales se consideran metamórficos de grado bajo, es decir, están formados por rocas de diferente composición donde predominan materiales de pequeño tamaño y escasa alterabilidad como cuarzo, moscovita o clorita al que se asocian pequeñas cantidades de otros componentes como sulfuros, carbonatos, granates o grafitos confiriéndoles diferentes propiedades de coloración o de comportamiento frente a la meteorización.

Las temperaturas del suelo más estables se encuentran en las zonas de eucaliptal y pinar. Esto es consecuencia directa de que es una zona más protegida con una cubierta vegetal más desarrollada y estable todo el año. La presencia de residuos forestales en diferente estado de degradación también crea una capa de aislante térmico muy adecuado.

3.3. Estudio de las propiedades físico-mecánicas.

Los resultados obtenidos a partir de los estudios de textura y estructura realizados en los suelos muestreados, recogidos en la Tabla 5, indican que:

- Tal y como se caracterizan por origen y desarrollo, presentan una **textura arcillosa** preferentemente, siempre con valores superiores al 35 % en la fracción arcilla. El suelo de cultivo, como se preveía, posee una estructura y textura modificada por la adición de cal y enmiendas propias del proceso de explotación agrícola al que se somete anualmente. Aún así su textura es franco-arcillosa.

- Se puede observar cómo los suelos de pinar y eucaliptal tienen una “ratio” similar en las tres categorías texturales.
- El suelo de pastizal posee una proporción de elementos gruesos importante. Posiblemente la diferencia frente a los suelos de pinar y eucaliptal radique en que las especies forestales tienen mayor capacidad de degradación de los minerales que las gramíneas o leguminosas propias del pastizal.
- La elevada proporción de gruesos del suelo de cultivo puede entenderse como consecuencia de fenómenos de agregación de alta estabilidad generados por la presencia de altas cantidades de calcio [6] procedente de la cal utilizada para elevar el pH. Estos datos se presentan en la Tabla 13. A la hora de analizarlos se debe tener en cuenta que gran parte del calcio adicionado está formando parte de los agregados y por lo tanto no está disponible en gran medida en el suelo utilizado para la analítica, ya que para esta parte del estudio se usó la fracción inferior a los 2 mm.

Tipo suelo	Composición granulométrica (%)			Descripción general del suelo sin excluir la fracción < 2 mm
	F	G	MG	
Pastizal	44.0	34.7	21.3	Estructura muy débil, subangular-granular compuesta y cantidades apreciables de polvo muy fino. Los agregados son >0.34 cm. Reparto medio: 71.7 % fino (<0.34 cm) y 28.3 % grueso (>0.34 cm). Grado de desarrollo pedial débil con clase estructural gruesa.
	Textura arcillosa			
Cultivo	36.1	41.4	22.5	Estructura estable-moderada, subangular-angular, con cantidades despreciables de piedras y agregados con alto grado de estabilidad. Los agregados son >0.40 cm. Reparto medio: 68.8 % fino (<0.40 cm) y 31.2 % grueso (>0.40 cm). Grado de desarrollo pedial moderado con clase estructural gruesa.
	Textura franco-arcillosa			
Eucaliptal	52.5	24.3	23.2	Estabilidad dependiente con polvillo patente, subangular-granular compuesta por unidades laminares procedentes de pizarra (>0.45 cm) y piedras (>0.29 cm). La pizarra es aproximadamente el 75 % del total de los componentes. Reparto medio: 42.4 % fino (0.29 cm) y 57.6 % grueso (>0.45 cm). Presencia elevada de materia orgánica (raicillas, hojas, corteza, etc.) finamente picada. Grado de desarrollo pedial moderado con clase estructural muy gruesa.
	Textura arcillosa			
Pinar	52.8	25	22.2	Estabilidad dependiente con polvillo patente y piedrecillas (0.27-1.00 cm). Estructura subangular- granular compuesta con agregados (>1.00 cm). La pizarra es el componente más abundante. Reparto medio: 39.1 % fino (0.27-1.00 cm) y 60.9 % grueso (>1.00 cm). Presencia elevada de materia orgánica (raicillas, hojas, corteza, etc.) finamente picada. Grado de desarrollo pedial moderado con clase estructural muy gruesa.
	Textura arcillosa			

Tabla 5. Propiedades de constitución, físicas y dinámicas de los suelos estudiados (I) Los datos de composición granulométrica se utilizan para definir la estructura de los suelos, una propiedad muy importante para poder comprender los resultados de la porosidad y la conductividad hidráulica. Abreviaturas para la fase menor de 2 mm: F (Finos), G (gruesos) y MG (muy gruesos).

- El suelo con estructura más homogénea es el suelo de pastizal como consecuencia de las labores de labranza simples a las que está sometido 2 o 3 veces al año (operaciones de corta y empaquetamiento del pasto utilizando tractores y empaquetadoras que ayudan a compactar el suelo de forma homogénea).
- En ninguno de los cuatro suelos muestreados se observan costras superficiales y la capa vegetal está adecuadamente desarrollada.

Tanto el estudio de la estructura como el de la estabilidad estructural son básicos para desarrollar modelos de prevención y lucha contra la erosión, mejora de la infiltración, penetración de las raíces y la aireación, o diseño de aplicaciones de ingeniería relacionadas con la optimización de la producción agrícola y la economía hídrica.

Propiedades	Pastizal	Cultivo	Eucaliptal	Pinar
$\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ ($\text{g}_{\text{Fe}}/\text{g}_{\text{suelo}}$)	0.006	0.012	0.014	0.004
Adhesividad (g cm^{-2})	0.093	0.044	0.069	0.059
Capacidad de campo (%)	33.63	32.73	38.48	39.53
Conductividad hidráulica (mm h^{-1})	81.72-MOR	139.68-R	341.28-MR	191.16-R
Densidad real (g cm^{-3})	1.98	1.99	1.76	1.75
Densidad aparente (g cm^{-3})	0.31-SO	0.23-SO	0.35-SO	0.34-SO
Test Proctor	27.20	26.40	30.15	8.24
Humedad residual (%)	5.79	4.52	8.24	14.3

Tabla 6a. Propiedades de constitución, físicas y dinámicas de los suelos estudiados (I). Conductividad hidráulica: MOR (moderadamente rápida), R (rápida) y MR (muy rápida). Densidad aparente: SO (suelos orgánicos).

De los resultados presentados en la Tabla 6a deducimos:

- La presencia de hierro en los suelos de pastizal es menor como consecuencia de la elevada absorción que de este elemento hacen las plantas jóvenes de pequeño porte, especialmente gramíneas y leguminosas. En el caso del pino puede ser que el hierro, manganeso, cobre, zinc o boro estén muy presentes en la fase disolución debido al pH ácido y que por lo tanto se pueden perder por arrastre profundo.

- **El suelo de cultivo posee los valores más bajos de adhesividad** como consecuencia que la adición de cal favorece los fenómenos de cohesión entre los diferentes elementos o partículas del suelo frente a los de adhesión [7-8].
- **Las capacidades de campo son muy similares aunque un poco menores en el suelo de cultivo** como consecuencia posible de la formación de agregados “parcialmente hidrófobos” debido a los procesos de labranza y que facilitan el movimiento rápido de agua frente a los procesos de absorción.
- En cuanto a la capacidad de drenaje, se observa que **los suelos con mejor conductividad hidráulica son los suelos forestales** debido a la presencia de piedrecillas de calibre importante. El suelo de pastizal posee la menor capacidad de conducción de agua en vertical. La razón puede ser que este terreno se somete dos veces al año a una corta de pastizal con maquinaria pesada (tractor+segadora+empacadora y tractor+remolque de carga). La acción de carga generada por la maquinaria provoca cierta compactación en las capas más superficiales (los primeros 30 cm) [8-11].
- Los valores de la densidad aparente son una integración de diferentes factores. De forma general todos los suelos muestreados poseen una elevada carga orgánica y esto modifica las propiedades del suelo en las capas más superficiales. **Los suelos forestales son los de mayor densidad aparente** debido posiblemente a la presencia de una mayor concentración elementos gruesos (Tabla 5, *Descripción general del suelo sin excluir la fracción < 2 mm*). El suelo de pastizal tiene mayor densidad aparente que el suelo de cultivo debido a los procesos de compactación comentados anteriormente y a que en el suelo de cultivo se forman macroporos debido tanto a la formación de agregados por la adición de materia orgánica como a las diferentes labores que sobre él se realizan.
- **Los suelos forestales poseen valores del Test Proctor más elevados** por la necesidad de mayor presencia de agua para compactar los minerales de pequeño tamaño que poseen y procedentes de la acción mecánica por parte de las plantas [6]. Esto hace que este tipo de suelos, como una de las consecuencias de su carga orgánica elevada y necesidades “extras” de agua para compactarse, mantengan mejor su estructura ante cargas externas.
- **En cuanto a los valores de humedad residual destacar los elevados valores de los suelos forestales, especialmente el pinar.** La razón puede explicarse desde la enorme cantidad de residuos forestales en diferentes estados de

degradación que hay en estos suelos, que absorben humedad y la desprenden más difícilmente.

Tipo suelo	Plasticidad			Porosidad (%)			Cap	Textura (g/l)		
	C	A	Ín	T	A	Ai		40''/(%)	4'/(%)	2 h/(%)
Pastizal	29.75	28.97	0.78	84.34	75.81	24.19	25.50	29/40.85	26/36.62	16/22.53
Cultivo	32.15	29.81	2.34	88.44	83.13	16.87	38.45	36/44.44	29/35.80	16/19.76
Eucaliptal	36.75	34.96	1.79	80.11	67.89	32.11	23.70	37/41.11	32/35.56	21/23.33
Pinar	40.40	38.18	2.22	80.57	67.62	32.38	22.89	38/38.38	31/31.31	30/30.31

Tabla 6b. Propiedades de constitución, físicas y dinámicas de los suelos estudiados (II). Abreviaturas: C (Casagrande, límite líquido), A (Atterberg, límite plástico), In (Índice de plasticidad), T (total), A (agua), Ai (Aire), Cap (Capacidad de absorción de agua en volumen ($\text{kg}_{\text{agua}}/\text{kg}_{\text{suelo}}$)).

Del análisis de esta Tabla 6b se puede destacar:

- **El mayor índice de plasticidad para el suelo de cultivo.** Algo lógico por el proceso de explotación agrícola que se lleva con adición de enmiendas varias y que tienden a favorecer la plasticidad de los mismos, además de los procesos de pudelado que se genera durante las diferentes labores de labranza del suelo [8].
- Por las mismas causas, **el suelo de cultivo posee una mayor porosidad total.** Aún así las porosidades totales son similares para los cuatro tipos de suelos. El suelo de cultivo, a pesar de tener el mejor porcentaje de porosidad de agua no posee la mejor conductividad hidráulica como consecuencia de la carga orgánica extra y las labores de labranza que destruyen la estructura conductora, y que influyen por lo tanto en la ralentización de la velocidad de conducción de agua a través del suelo. A mayores la porosidad de aire es muy baja como consecuencia de los trabajos de labranza que rompen la estructura de poros en la parte superficial [8-11]. En estos procesos, y debido al pudelado, la razón de vacíos se reduce [8]. La estructura y la “ratio” de poros en los suelos forestales es semejante. Además en estos suelos la ratio de poros de agua y de aire es más estable. Los poros de agua, normalmente relacionados con los macroporos, tienen una presencia muy importante en el suelo de pastizal como consecuencia de su “abandono”.

- El suelo de cultivo muestra la mayor capacidad de absorción de agua en volumen gracias a la presencia de enmiendas y grandes cantidades de materia orgánica adicionada como estiércol de forma regular a lo largo del año.

3.4. Estudio de las propiedades químicas.

Antes de analizar los datos presentados en las Tablas de esta sección subrayamos los factores que afectan a la disponibilidad de iones para las plantas [5, 7, 11], son los citados a continuación:

- Cantidad o concentración en la solución del suelo de un elemento en reserva inmediata o fácilmente asimilable que participa en el equilibrio entre la fracción sólida del suelo y la solución.
- Intensidad o número de iones en la fase líquida (disolución) y que da una idea del grado de interacción con la fase sólida del suelo y la velocidad de liberación de la misma.
- Actividad de los microorganismos presentes. En este parámetro influyen tanto la cantidad como la variabilidad de los mismos.
- Poder amortiguador cuando se hace la selección por parte de la raíz durante su absorción del coloide para un determinado ión.

Muy cerca de la zona de muestreo existen dos importantes fuentes de contaminación por oligoelementos (Figura 56): el complejo industrial Alúmina-Aluminio perteneciente al grupo ALCOA, situado en el municipio de Cervo, y la central de ciclo combinado del grupo Endesa, situada en As Pontes. La actividad principal de Alúmina consiste en la producción de aluminio primario a través de un proceso electrolítico y la de Endesa en la producción de energía hidroeléctrica. En los siguientes cuadros se recogen las principales emisiones atmosféricas de ambas industrias.



Figura 56. La factoría de Alúmina-Aluminio de ALCOA se encuentra al NE de la zona de muestreo a escasos 15 km y la central térmica de As Pontes a unos 28 km al SO.

En la zona de muestreo los vientos predominantes son SO y NE, flechas roja y amarilla respectivamente.

Planta de Alúmina		Planta de Aluminio	
Elemento	kg año ⁻¹	Elemento	kg año ⁻¹
F	1.45x10 ⁴	F	2.32x10 ⁵
Cu	73	PFC's	8.13x10 ³
Cd	17	CO	1.57x10 ⁸
Ni	91	PM ₁₀	4.18x10 ⁵
SO ₂	1.00x10 ⁷	SO ₂	3.36x10 ⁶
NO ₂	1.48x10 ⁶	Cl	1.65x10 ⁴
CO ₂	8.30x10 ⁸	PFCs: perfluorocarburos, PM ₁₀ : partículas con diámetro entre 2.5 y 10 µm	

Tabla 7. Principales emisiones del complejo industrial Alúmina-Aluminio (según el Ministerio de Medioambiente en 2001).

Elemento	kg año ⁻¹
CH ₄	7.50x10 ⁵
CO	1.60x10 ⁶
CO ₂	9.55x10 ⁸
NO _x /NO ₂	4.01x10 ⁵
Cd	13.80
Zn	604

Tabla 8. Principales emisiones de la Central Térmica de As Pontes-ENDESA (según el Ministerio de Medioambiente en 2008).

De forma general, decir que en las instalaciones como Alúmina las emisiones a la atmósfera pueden ser [12]:

- Fluoradas, principalmente en forma de HF y partículas consistentes fundamentalmente en NaAlF₄. De forma general se puede decir que las coníferas resinosas son las especies forestales que son más sensibles al F.
- De SO₂ procedentes de la quema de combustibles fósiles.
- De metales pesados tales como Fe, Mn, Cr, Ni, Zn, Cu, Co, Pb y Cd [13, 14].

Por su parte en Endesa, las emisiones principales son de CO₂, CO, SO₂, NO_x, y material particulado ácido.

Suelo	Estación	N (%)	C (%)	H (%)	O _{aprox} (%)	CMO (%)
Pastizal	Primavera	0.4892	5.5162	2.5531	49.9597	9.50
	Verano	0.2644	4.6038	0.8473	52.7770	7.90
	Otoño	0.3498	4.0806	2.4896	52.1490	7.00
	Invierno	0.5589	6.8233	2.5967	48.1871	11.80
Cultivo	Primavera	0.2745	4.5451	1.9591	51.8903	7.8 0
	Verano	0.4513	4.9907	1.1279	53.7581	8.60
	Otoño	0.4034	4.5583	2.2620	46.0323	7.90
	Invierno	0.3304	4.6426	2.5873	46.3650	8.00
Eucaliptal	Primavera	0.1973	5.9822	3.9679	46.6201	10.30
	Verano	0.2434	4.6740	0.9630	50.6420	8.10
	Otoño	0.1851	3.9530	2.5122	46.1961	6.80
	Invierno	0.2417	6.2548	2.6963	46.5413	10.80
Pinar	Primavera	0.3354	7.3011	1.8093	49.2060	12.60
	Verano	0.4489	7.5483	1.4523	50.0081	13.00
	Otoño	0.3378	6.4098	2.5926	48.2545	11.00
	Invierno	0.1943	4.1907	1.3589	52.1898	7.20

Tabla 9. Composición elemental de los diferentes suelos. Abreviaturas: O_{aprox} (porcentaje aproximado de oxígeno. En este resultado ya están integrados los obtenidos para los diferentes elementos mediante Fluorescencia de Rayos X), CMO (%): Contenido en Materia Orgánica.

El control de los procesos de reducción y oxidación que se dan en el suelo depende principalmente de la presencia de compuestos de carbono (donadores de electrones) y oxígeno (aceptor electrones). Además la presencia de carbono orgánico y el oxígeno presente en los poros del suelo, controlan los procesos de oxidación y reducción del nitrógeno y azufre.

De forma general se puede observar como para todos los elementos de la Tabla 9 los valores más estables son los correspondientes al suelo de cultivo como consecuencia de las labores de mantenimiento y explotación agrícola. También destacar que los valores del nitrógeno y el carbono son generalmente superiores a los considerados como de referencia para los suelos de Galicia, entre 0,1 % y 1 % respectivamente. Por su parte el oxígeno mantiene un valor medio para los 4 tipos de

suelos muy próximo al considerado como de referencia, el 49 %. De forma general, se puede decir que todos los suelos poseen valores razonablemente aceptables y estables a lo largo del año.

Tanto el carbono, el azufre, como el nitrógeno, tienen su origen en los compuestos orgánicos del suelo. En el caso particular del azufre, tanto la materia orgánica como la biomasa actúan como reservorio para éste en el suelo ya que las plantas durante su crecimiento absorben rápido el ión sulfato y lo fijan en la biomasa.

También se debe tener en cuenta que tanto en los suelos de cultivo como de pradera las leguminosas y los fertilizantes pueden hacer fluctuar el contenido de nitrógeno del suelo de forma importante en las diferentes épocas del año. En este tipo de suelos los cultivos capaces de usar formas amoniacales del N poseen ventaja en suelos ácidos porque la nitrificación, u oxidación microbiana de amoníaco a nitrato, es lenta por debajo de pH 5.5. En el caso de los suelos forestales ácidos, los iones de amonio se acumulan ya que microorganismos que transforman el N orgánico a amoníaco dependen menos del pH que los organismos nitrificadores. También en suelos ácidos se produce la fijación del ión amonio entre las estructuras cristalinas de los minerales de arcilla laminares y expandibles.

La relación C/S considerada como ideal para los suelos con alta carga orgánica es de 100/1. En los resultados obtenidos que se muestran en la Tabla 10 se pueden observar valores un poco más bajos de los habituales para los suelos de Galicia. El suelo con valores más acordes a los considerados como más adecuados es el suelo de pinar, mientras que el suelo de cultivo posee los valores más bajos y estables a lo largo del año.

Tipo de suelo	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Pasto	51.46	49.03	33.86	57.15
Cultivo	39.66	38.78	31.88	33.45
Eucaliptal	45.53	36.32	33.39	50.40
Pinar	62.51	83.22	52.63	46.98

Tabla 10. Relación C/S de los 4 suelos muestreados [15].

En cuanto a la relación C/N (Tabla 11), factor que influye sobre la velocidad de degradación de la materia orgánica, los valores de los cuatro tipos de suelos muestreados, aunque un poco elevados, se mueven generalmente dentro de valores considerados como adecuados, entre 8 y 20. Durante las estaciones de primavera y

verano están los valores más favorables. La relación C/N determina el grado de mineralización de la materia orgánica que existe en el suelo, así como el tipo de humus que se encuentra en él, y por lo tanto cuanto menor sea el valor de la relación mayor será el grado de mineralización de la materia orgánica y, por tanto, la calidad edáfica será superior. En los suelos agrícolas la relación C/N se mantiene entre 11 y 19, valores bastante habituales aunque un poco elevados para el horizonte Ap (horizonte antrópico) de los suelos cultivados de climas templados, con unos valores ideales entre 8 y 12. Los valores C/N obtenidos para el suelo de cultivo son los más estables y adecuados a lo largo del año. Este dato supone un equilibrio entre los procesos de mineralización y humificación, una fertilidad adecuada pero necesitada de enmiendas periódicas, mientras que para los suelos forestales los valores van de 11 a 25. En nuestros suelos forestales los valores hacen presuponer una alta humificación y un humus tipo morder. Estos valores deberían ir disminuyendo a medida que profundizamos en el perfil. De forma general los valores de C/N más elevados en todos los suelos se dan durante el otoño, y la posible razón sea el aporte de la materia orgánica acumulada durante el verano y arrastrada a lo largo del perfil al comienzo de las lluvias.

Tipo de suelo	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Pasto	11.28	16.56	30.32	21.77
Cultivo	17.41	11.06	19.20	16.82
Eucaliptal	11.67	11.30	21.36	18.98
Pinar	12.21	14.05	25.88	21.57

Valores de la relación C/N con la calidad edáfica: <8: muy buena, 8-12: buena, 12-15: mediana, 15-20: deficiente, 20- 30: mala y >30: muy mala.

Tabla 11. Relación C/N de los 4 suelos muestreados [15].

Si analizamos el contenido en materia orgánica (Tabla 10), parámetro relacionado directamente con la calidad edáfica, se puede ver cómo los valores son muy similares para los 4 tipos de suelos:

- A lo largo del año todos los suelos se pueden considerar húmíferos o muy húmíferos, es decir, tienen contenidos en materia orgánica muy elevados.
- Los suelos de pasto, eucaliptal y pino tienen las concentraciones más elevadas. La razón es que son suelos no trabajados y se genera un depósito de materia orgánica que enriquece el suelo. De estos tres tipos de suelos destacar el pinar

por el ser de mayor cantidad de materia orgánica debido a la enorme cantidad de residuos forestales que se genera en los pinares y la rápida degradabilidad de la misma. El eucalipto genera también una cantidad importante de materia residual pero su degradabilidad es menor, y por lo tanto su aporte al suelo es más lento.

- El suelo de cultivo al estar sometido a un proceso de productividad continuo, a pesar de las enmiendas, tiene unos valores menores.

No se debe olvidar que el contenido en materia orgánica interviene en la estructura del horizonte, ayuda a formar los complejos arcillo-húmicos del suelo, mejora la capacidad de infiltración del agua en suelos arcillosos y aumenta la capacidad de retención en los suelos arenosos y determina la disponibilidad de nutrientes, influyendo por tanto positivamente en la productividad del suelo. En el cuadro siguiente se muestran los valores del contenido en materia orgánica y la clasificación de los suelos según éste.

Contenido en materia orgánica (%)	Tipo de suelo
0-2	Muy deficiente
2-4	Deficiente
4-6	Contenido normal
6-8	Contenido apreciable
8-10	Humífero
>10	Muy humífero

Tabla 12. Clasificación de los suelos en función de su contenido en materia orgánica [15].

		K (%)	Ca (%)	Ti (%)	Fe (%)	Al (%)	Si (%)
Eucaliptal normal	Primavera	2.00	1.02	0.68	4.70	12.05	20.75
	Verano	2.00	1.06	0.66	4.50	13.33	19.79
	Otoño	2.00	1.00	0.65	4.80	12.50	19.74
	Invierno	1.90	1.04	0.62	5.20	13.04	19.73
Eucaliptal seco	Primavera	2.10	1.01	0.61	4.00	12.40	19.60
	Verano	2.00	1.05	0.65	3.80	14.12	20.77
	Otoño	2.10	1.02	0.64	4.00	14.19	20.84
	Invierno	1.90	0.98	0.60	3.70	11.63	19.05
Cultivo normal	Primavera	2.30	1.04	0.56	4.80	12.35	19.83
	Verano	2.30	1.00	0.57	5.00	11.15	19.24
	Otoño	2.40	1.10	0.63	4.70	14.10	23.24
	Invierno	2.40	1.01	0.60	5.40	13.58	22.62
Cultivo seco	Primavera	2.40	0.95	0.62	4.70	13.80	21.52
	Verano	2.30	0.96	0.61	4.40	12.08	21.22
	Otoño	2.40	1.07	0.60	4.30	14.10	22.69
	Invierno	2.30	0.94	0.62	4.40	13.09	22.17
Pastizal normal	Primavera	2.30	0.81	0.74	6.00	11.36	21.55
	Verano	2.30	0.62	0.76	5.40	12.47	21.51
	Otoño	2.30	0.64	0.76	5.50	14.34	23.21
	Invierno	2.20	0.76	0.73	5.30	12.72	22.08
Pastizal seco	Primavera	2.40	0.81	0.76	4.80	10.84	20.73
	Verano	2.30	0.61	0.76	4.70	12.70	22.14
	Otoño	2.40	0.63	0.77	4.90	12.82	21.79
	Invierno	2.20	0.72	0.75	4.80	10.22	20.81
Pinar normal	Primavera	1.90	0.97	0.69	5.70	11.83	19.89
	Verano	1.90	1.00	0.69	5.00	12.50	19.15
	Otoño	2.00	1.01	0.67	5.40	12.57	20.40
	Invierno	2.00	0.97	0.68	5.10	12.99	20.07
Pinar seco	Primavera	1.80	0.94	0.66	3.90	11.53	19.32
	Verano	2.10	1.03	0.69	4.00	13.71	21.01
	Otoño	2.00	0.98	0.68	3.90	12.47	20.95
	Invierno	2.10	0.99	0.68	3.90	12.87	21.76

Tabla 13. Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: K, Ca, Ti, Fe, Al, Si.

Todas las medidas fueron realizadas en las muestras de suelos tanto con humedad residual o “normal”, como completamente secas o “seco”, y que por otro lado es lo habitual para la realización de esta técnica. Se puede observar como los valores son semejantes en ambos casos.

A la vista de los resultados de la Tabla 13 se puede decir [5, 7, 11, 15, 16]:

- Potasio (K).** El K es el tercer elemento fertilizante después del P y N, y uno de los macronutrientes esenciales más importantes y cumple funciones vitales en la fisiología vegetal. Su deficiencia origina importantes mermas en el rendimiento y/o calidad de los cultivos, y no permite el correcto funcionamiento de los sistemas agropecuarios. En el suelo se puede presentar como parte de la solución del suelo (<1 % del K total del suelo), y mayoritariamente como ión K^+ , que se mueve fundamentalmente por difusión y se haya en equilibrio dinámico con el K adsorbido en las arcillas, (también denominado K intercambiable), y con las formas de escasa accesibilidad como el K fijado al complejo arcilloso (5-10 %) y el K estructural o de reserva (90-95 %). Los valores de referencia para el potasio en los suelos están en torno al 1 %. El suelo de cultivo tiene una concentración más elevada que el resto de los suelos como consecuencia de las labores de abono y labranza. La adición de cal mejora el aprovechamiento de K porque se aumenta la capacidad de intercambio catiónico del suelo y así se retiene más potasio y durante más tiempo en la zona cercana a las raíces.
- Calcio (Ca).** El calcio es otro nutriente esencial para los suelos. Sus valores de referencia se mueven cercanos al 1 %. Es un valor adecuado ya que el valor estándar para los suelos es del 1 %. Los valores más bajos se dan en los suelos de pastizal.
- Titanio (Ti), hierro (Fe).** Los valores medios de referencia para el Ti y el Fe son 0,5 %, 4 %

Composiciones promedio (%) de las principales rocas que darán lugar a la mayor parte de los suelos del mundo.					
	Graniodorita	Basalto	Lutita	Arenisca	Caliza
SiO ₂	65.1	49.3	58.1	78.3	5.2
K ₂ O	2.4	1.2	4.3	1.4	0.04
TiO ₂	0.5	2.6	0.6	0.2	0.06
Al ₂ O ₃	15.8	14.1	15.4	4.8	0.8
Fe ₂ O ₃	1.6	3.4	4.0	1.1	0.5
FeO	2.7	9.9	2.4	0.3	----
MgO	2.2	6.4	2.4	1.2	7.9
CaO	4.7	9.7	3.1	5.5	42.6
Na ₂ O	3.8	2.9	1.3	0.4	0.05
H ₂ O	1.1	----	5.0	1.6	0.8
P ₂ O ₅	0.1	0.5	0.17	0.08	0.04
SO ₃	----	----	0.6	0.07	0.05
CO ₂	----	----	2.6	5.0	41.5
Total	100	100	100	100	100

respectivamente. Los valores de toxicidad para estos elementos van del 1 a 20 %, siendo 5 % un valor adecuado. Por lo tanto los valores de nuestros suelos están dentro del rango idóneo. Utilizando conclusiones de otros estudios realizados en la zona [12], el contenido de Fe total y biodisponible indican que la mayor parte del Fe aportado no está en forma disponible, y del que se encuentran en esta última forma se solubiliza una pequeña cantidad. La presencia de iones metálicos en disolución depende de la concentración de aniones y agentes quelantes en la misma, del pH y potencial redox y de la presencia de superficies de adsorción.

- **Aluminio (Al).** Normalmente el Al, con un valor es un producto típico del intemperismo del suelo. El Al^{+3} reacciona con agua y libera H^+ para la solución del suelo reduciendo así el pH. Los suelos estudiados aunque doblan el valor estándar (7%) están dentro del margen adecuado y lejos de los valores de toxicidad. Tanto el Al como el H abundan en suelos ácidos. Estos elementos suelen utilizarse como patrones de control de la actividad del suelo debido a lo ligado que las propiedades químicas de muchos iones y microorganismos tienen del pH. En el caso del Al se debe tener en cuenta que en los suelos forestales la mayor parte del F en disolución se encuentra ligado al Al, mientras que en los suelos de cultivo la mayoría se encuentra como F libre.

El diferente comportamiento se puede explicar teniendo en cuenta que en los suelos forestales el pH es más ácido y por tanto se obtiene una mayor concentración de Al en disolución, éste se une al F en forma de complejos $\text{AlF}_x^{(3-x)}$, disminuyendo así la fracción de F libre [12]. Se debe tener en cuenta que los contenidos mayores de F deberían ser más elevados en los dos primeros centímetros de profundidad como consecuencia de la deposición de F. Además, la elevada capacidad de adsorción de F que presentan los suelos de Galicia derivados de granito limita la movilidad del mismo y evita posibles problemas de toxicidad.

- **Silicio (Si).** Para el silicio el valor estándar es del 33 %. Por lo tanto los suelos estudiados tienen valores adecuados. El Si es un elemento básico para los diferentes procesos de formación de los suelos a la hora de formar unidades estructurales básicas como las arcillas.

		P (ppm)	S (ppm)	Cl (ppm)	V (ppm)	Cr (ppm)	Ba(ppm)
Eucaliptal normal	Primavera	n.d.	956	470	d	123.79	d
	Verano	n.d.	1044	620	d	112.50	d
	Otoño	n.d.	578	362	d	115.03	d
	Invierno	n.d.	1008	490	d	94.89	d
Eucaliptal seco	Primavera	n.d.	1314	722	d	113.02	d
	Verano	n.d.	1287	706	d	95.71	d
	Otoño	n.d.	1184	631	d	121.34	d
	Invierno	n.d.	1241	1091	d	101.78	d
Cultivo normal	Primavera	827	1538	379	d	83.16	d
	Verano	1033	793	426	d	108.60	d
	Otoño	2036	1443	440	d	118.05	d
	Invierno	880	1501	392	d	81.70	d
Cultivo seco	Primavera	1202	1146	381	d	114.14	d
	Verano	1420	1287	461	d	105.10	d
	Otoño	1578	1430	303	d	125.86	d
	Invierno	1315	1388	1005	d	104.39	d
Pastizal normal	Primavera	741	1327	337	d	128.29	d
	Verano	586	865	791	d	102.09	d
	Otoño	862	731	428	d	106.40	d
	Invierno	527	1508	501	d	124.97	d
Pastizal seco	Primavera	628	1072	470	d	100.94	d
	Verano	575	939	502	d	125.24	d
	Otoño	461	1205	460	d	110.88	d
	Invierno	1181	1194	570	d	121.37	d
Pinar normal	Primavera	n.d.	1230	738	d	117.13	d
	Verano	n.d.	936	636	d	121.51	d
	Otoño	n.d.	1161	387	d	114.56	d
	Invierno	n.d.	610	217	d	137.46	d
Pinar seco	Primavera	n.d.	1168	724	d	120.09	d
	Verano	n.d.	907	883	d	134.09	d
	Otoño	n.d.	1218	731	d	135.18	d
	Invierno	n.d.	892	451	d	118.56	d

Tabla 14. Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: P, S, Cl, V, Cr, Ba. d: detectados en cantidades traza; nd: no detectados.

A partir de los valores presentados en la Tabla 14 se puede decir que:

- **Fósforo (P).** Es muy difícil obtener conclusiones de su estudio ya que interacciona con las fases sólidas orgánicas e inorgánicas, lo absorben los vegetales y los microorganismos, su restitución es continua como consecuencia de la descomposición de la materia orgánica y su reacción es lenta. Normalmente la actividad humana genera aumentos en su concentración, y posiblemente esta sea la razón que explica los elevados valores en los suelos

de cultivo y pastizal. El aprovechamiento del fosfato disminuye a pH alto debido a la precipitación de este en forma de compuestos de fosfato de calcio insolubles.

- **Cloro (Cl).** Importante en cantidades traza para el crecimiento de las plantas aunque soportan bien concentraciones elevadas. Afecta principalmente a la producción de frutales y aumenta la presión osmótica del agua del suelo reduciendo su disponibilidad para las plantas. La evolución del Cl en los suelos y sus efectos son los mismos que para el Fl, el Br, y el I [12]. En los suelos estudiados los niveles de Cl son muy elevados si tenemos en cuenta que las plantas tienen unos requerimientos medios de 5 ppm.
- **Cromo (Cr).** Los valores de Cr, aunque unas 5 veces superior los valores al nivel de tolerancia más adecuado de 20 ppm, se mantienen estables a lo largo del año y no suponen problema alguno. Los límites para este elemento van desde 5 a 1000 ppm. El Cr es esencial para la microfauna que vive en el suelo.

		As (ppm)	Se (ppm)	Br (ppm)	Rb (ppm)	Sr (ppm)	Y (ppm)
Eucaliptal normal	Primavera	21	0	107	159	147	57
	Verano	25	0	106	152	156	52
	Otoño	26	1	126	153	152	49
	Invierno	28	1	176	161	150	79
Eucaliptal seco	Primavera	21	1	135	126	117	50
	Verano	20	0	119	132	124	43
	Otoño	18	0	120	137	123	38
	Invierno	22	1	141	120	108	44
Cultivo normal	Primavera	27	0	27	132	126	40
	Verano	27	0	31	142	139	43
	Otoño	27	0	28	149	139	40
	Invierno	29	0	32	148	130	44
Cultivo seco	Primavera	24	0	24	127	107	35
	Verano	27	1	27	122	110	34
	Otoño	25	0	29	125	112	36
	Invierno	25	0	28	118	109	36
Pastizal normal	Primavera	42	0	25	125	112	37
	Verano	38	1	26	134	108	42
	Otoño	36	2	25	116	98	41
	Invierno	38	2	32	136	114	37
Pastizal seco	Primavera	27	0	30	111	99	33
	Verano	32	0	24	100	84	27
	Otoño	29	0	29	112	94	31
	Invierno	37	0	36	100	86	25
Pinar normal	Primavera	38	1	176	162	146	36
	Verano	32	1	119	156	144	38
	Otoño	39	2	142	173	157	37
	Invierno	33	1	76	152	152	37
Pinar seco	Primavera	23	0	155	126	108	26
	Verano	26	0	111	128	121	30
	Otoño	25	0	132	124	112	27
	Invierno	25	1	76	124	120	27

Tabla 15. Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: As, Se, Br, Rb, Sr, Y.

En la Tabla 15 destacamos:

- **Arsénico (As).** Suele ser de origen antrópico como consecuencia del uso de insecticidas. Es retenido fuertemente por el suelo y su biodegradación es lenta haciendo su persistencia larga. En todos los suelos analizados su concentración

se puede definir como ligeramente elevada, ya que su valor de referencia está en 5 ppm y los valores extremos entre 1 y 50 ppm.

- **Selenio (Se) y azufre (S).** Pueden acumularse en las legumbres y generar problemas de seguridad alimentaria. El Se tiene unos valores un poco elevados en determinados suelos y en determinadas épocas, ya que su valor de referencia es de 0.5 ppm y sus valores extremos de 0.1 a 2 ppm.

		Zr (ppm)	Nb (ppm)	Pb (ppm)	Th (ppm)
Eucaliptal normal	Primavera	230	22	44	17
	Verano	280	23	39	15
	Otoño	257	23	32	8
	Invierno	251	23	48	16
Eucaliptal seco	Primavera	185	19	32	9
	Verano	212	18	27	8
	Otoño	205	19	31	13
	Invierno	181	15	32	6
Cultivo normal	Primavera	200	18	71	8
	Verano	220	21	56	13
	Otoño	226	21	57	15
	Invierno	248	21	54	14
Cultivo seco	Primavera	180	15	47	10
	Verano	206	18	40	7
	Otoño	179	20	49	13
	Invierno	191	18	47	12
Pastizal normal	Primavera	265	24	70	16
	Verano	281	23	55	11
	Otoño	324	21	51	12
	Invierno	280	24	61	12
Pastizal seco	Primavera	255	18	56	12
	Verano	255	20	41	7
	Otoño	231	19	46	11
	Invierno	188	18	41	9
Pinar normal	Primavera	316	24	43	13
	Verano	237	23	42	9
	Otoño	282	26	46	11
	Invierno	257	24	51	9
Pinar seco	Primavera	176	19	30	11
	Verano	242	20	32	11
	Otoño	192	20	37	9
	Invierno	207	21	42	13

Tabla 16. Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: Zr, Nb, Pb, Th.

De los valores de la Tabla 16 destacamos los valores normales del Pb como elemento más importante debido a su potencial contaminante en el medio y transmisible a seres humanos. Los valores de referencia para este compuesto se sitúan en 10 ppm, y sus valores extremos entre 2 y 200 ppm.

		Mg (%)	Mn (ppm)	Ni (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Ga (ppm)
Eucaliptal normal	Primavera	nd	253	40	49	120	2
	Verano	nd	229	36	53	131	2
	Otoño	nd	297	44	52	133	2
	Invierno	nd	272	45	57	138	2
Eucaliptal seco	Primavera	nd	212	24	31	105	2
	Verano	nd	207	32	38	106	2
	Otoño	nd	227	38	35	108	2
	Invierno	nd	230	20	31	95	2
Cultivo normal	Primavera	nd	778	47	69	139	1
	Verano	nd	784	49	72	160	2
	Otoño	nd	751	38	73	137	2
	Invierno	nd	793	44	67	166	2
Cultivo seco	Primavera	nd	634	27	55	123	1
	Verano	nd	596	35	57	122	1
	Otoño	nd	627	41	61	119	1
	Invierno	nd	552	45	55	123	1
Pastizal normal	Primavera	nd	1239	35	67	134	1
	Verano	nd	921	32	62	97	1
	Otoño	nd	990	34	63	95	1
	Invierno	nd	1149	39	59	114	1
Pastizal seco	Primavera	nd	1143	26	43	105	1
	Verano	nd	860	24	47	77	1
	Otoño	nd	938	28	48	75	1
	Invierno	nd	999	31	44	92	1
Pinar normal	Primavera	nd	461	31	41	107	2
	Verano	nd	364	27	45	92	2
	Otoño	nd	785	36	48	103	3
	Invierno	nd	640	41	35	89	2
Pinar seco	Primavera	nd	319	27	36	82	2
	Verano	nd	288	27	37	72	2
	Otoño	nd	569	25	35	78	2
	Invierno	nd	433	33	30	63	2

Tabla 17. Composición obtenida mediante Rayos X: Mg, Mn, Ni, Cu, Zn, Ga. nd: no detectados.

A partir de los valores de la Tabla 17 destacamos:

- **Magnesio (Mg).** El Mg, debido a lo ácido de los suelos, presenta concentraciones no apreciables. El uso de cal como enmienda corrige estas deficiencias por la presencia de impurezas de Mg en la cal. El Mg posee un valor de referencia: 850 ppm con límites entre 100 y 4000 ppm.
- **Manganeso (Mn).** El Mn, Fe, Cu, Zn y Mo son elementos esenciales para los vegetales y se presentan en concentraciones adecuadas. Por tanto, con el paso del tiempo se produce un incremento tanto del Mn biodisponible como del Mn total. Los valores detectados en los suelos se pueden considerar como normales. El Cu está en su mayor parte en forma no disponible. La fracción orgánica del suelo presenta muchos lugares de adsorción específica para el Cu, debido principalmente a la gran capacidad de este ión para formar complejos de “esfera interna” en un amplio rango de valores de pH. También los minerales del suelo son capaces de adsorber Cu de la disolución, proceso que depende de la carga superficial del adsorbente, que en muchos casos es dependiente del pH.
- **Niquel (Ni), cobre (Cu) y zinc (Zn).** Los valores del Ni (valor de referencia: 40 ppm con límites entre 10 y 1000 ppm), el Cu (valor de referencia: 20 ppm con límites entre 2 y 100 ppm), y el Zn (valor de referencia: 50 ppm con límites entre 10 y 300 ppm) se encuentran dentro de la normalidad. El Ni es esencial para los animales y sus concentraciones son adecuadas.

De forma general, y analizando todos los resultados presentados en las Tablas anteriores, y correspondientes al apartado de propiedades químicas, se puede decir que:

- Los valores de composición elemental para todos los suelos son adecuados.
- Los valores más estables a lo largo del año para las relaciones C/N y C/S son para el suelo de cultivo.
- La presencia de materia orgánica en todos los suelos es apreciable y propia de suelos húmicos.
- Los porcentajes de Aluminio y Cloro son bastante elevados en todos los suelos.
- La presencia de Fósforo en los suelos forestales no es detectable.
- La presencia de Arsénico y Selenio es un poco elevada en todos los suelos.
- A pH bajos, tanto la concentración de los elementos químicos analizados, como su movilidad, son muy elevadas. El aumento del pH reduce estos

parámetros. El Mo es una excepción ya que aumenta su disponibilidad al aumentar el pH.

- Los suelos ácidos pueden generar deficiencias de Zn y Cu. Esto ocurre en suelos muy intemperizados. La mayor parte del Ni que llega a estos suelos se encuentra en forma no disponible. Las muestras del presente estudio tienen contenidos elevados de materia orgánica (6.80 a 13.00 %), y esto ayudaría a la complejación de este elemento.
- Por otro lado el Zn y el Cu forman complejos con la materia orgánica sólida reduciendo así su concentración en el suelo. El Zn puede llegar al suelo fundamentalmente a través del agua de lluvia. Los minerales de la arcilla, oxihidróxidos y pH son los factores más importantes en el control de la solubilidad del Zn, mientras que la complejación orgánica y la precipitación como hidróxidos, carbonatos y sulfuros de Zn parecen tener menor importancia. Por otra parte, los minerales de la arcilla y la materia orgánica presentan una gran capacidad para retener el Zn de la disolución.
- Los riesgos producidos por los oligocontaminantes son función, entre otros, de la toxicidad y carácter acumulativo de cada elemento, destacando especialmente los ocasionados por el Hg, Cd, Br, Cs, y Rb. En el estudio de las interacciones entre metales y organismos indica que mucho más importante que el contenido total de un elemento es su distribución, forma o especie en que se presenta en el suelo.
- No se detectaron contenidos de Mg, Cd ni Co en las muestras estudiadas, y la presencia de V y Ba es despreciable.

Por lo tanto, y de forma global, los valores de todos los elementos químicos analizados se mueven dentro de rangos razonablemente adecuados, pudiendo así obviar la composición química de los suelos como una variable que pueda afectar de manera significativa al crecimiento microbiano a lo largo del año en los suelos estudiados.

3.5. Estudio del número más probable de microorganismos (NPM).

Tipo de suelo	Estación	NPM ($\times 10^6$)
Pastizal	Primavera	16.0
	Verano	2.8
	Otoño	16.0
	Invierno	16.0
Cultivo	Primavera	11.0
	Verano	17.0
	Otoño	22.0
	Invierno	54.0
Eucaliptal	Primavera	0.92
	Verano	1.3
	Otoño	1.6
	Invierno	3.5
Pinar	Primavera	7.9
	Verano	4.6
	Otoño	5.4
	Invierno	5.4

Tabla 18. Número más probable de microorganismos (NPM) para los cuatro suelos estudiados a lo largo del año.

A la vista de los resultados mostrados en la Tabla 18 para cada uno de los suelos, se puede decir:

- Como era de esperar en el análisis de las propiedades físicas y químicas, el suelo con un mayor número de microorganismos es el suelo de cultivo, ya que está durante todo el año sometido a diferentes procesos de abonado, enmienda, riego y mantenimiento. Además, se debe destacar que este suelo es el que posee valores de pH más adecuados (Tabla 4-Anexo I) para soportar una comunidad de microorganismos más numerosa, estable y desarrollada. Por otro lado, se puede observar cómo la población de microorganismos evoluciona de una manera “cíclica”, es decir, los valores más elevados son en otoño-invierno coincidiendo con la etapa de descanso productivo y abonado, mientras que los valores menores son en primavera-verano que es el momento de la cosecha.
- El pastizal es el segundo suelo en función del NPM y el que presenta un comportamiento más estable a lo largo de todo el año, excepto durante el verano. Después del suelo de cultivo es el suelo con un pH más adecuado. En

este tipo de suelo, y posiblemente debido a la simplicidad tanto de su estructura en cuanto a población microbiana, como de suelo, como de comunidad vegetal que soporta, los parámetros ambientales básicos como la humedad y la temperatura afectan de manera directa y manifiesta a la población microbiana. Así se puede observar como en verano, y debido a la escasa humedad y temperaturas elevadas, el NPM disminuye drásticamente y el resto del año es totalmente estable.

- El suelo de eucaliptal es el suelo más ácido, lo que hace que presente un menor valor global de NPM. Debido a la capa residual abundante y poco degradable que se genera en este tipo de suelos, se aseguran una temperatura y una humedad en la capa superficial del suelo muy estable a lo largo del año haciendo que su NPM no sea tan dependiente de las condiciones ambientales. Aún así, en los meses finales de la primavera y el verano, y como consecuencia de las elevadas temperaturas y la menor disponibilidad hídrica, los valores del NPM son los más bajos.
- El suelo de pinar, debido a la estructura superficial del suelo y los residuos forestales presentes, depende bastante de las condiciones de temperatura y humedad ambiental. Por eso en verano el NPM es el menor y durante otoño e invierno se mantiene estable. Entre la población de microorganismos y el contenido en materia orgánica se observa una evolución inversa, es decir, ante un aumento en el NPM se observa una disminución del contenido en materia orgánica (Tabla 10-Anexo I). Su pH fuertemente ácido influye directamente sobre la población microbiana.

Como curiosidad, y teniendo en cuenta los valores absolutos de NPM, poner de manifiesto la evolución similar que siguen los suelos de pastizal-pinar y los de cultivo-eucaliptal a lo largo del año (Figura 57). De forma más particular mencionar la evolución semejante que el NPM y la humedad siguen en los suelos, que además es opuesta a la evolución de la temperatura (Tabla 4-Anexo I).

Sintetizando, cabe destacar la enorme influencia que el pH, la temperatura y la humedad tienen en el NPM de los suelos. Debido a la estructura poco desarrollada del suelo de pastizal, resaltar también el impacto que la humedad tiene en el NPM haciendo que en verano a penas se mantenga la estructura microbiana de los mismos por la falta de humedad.

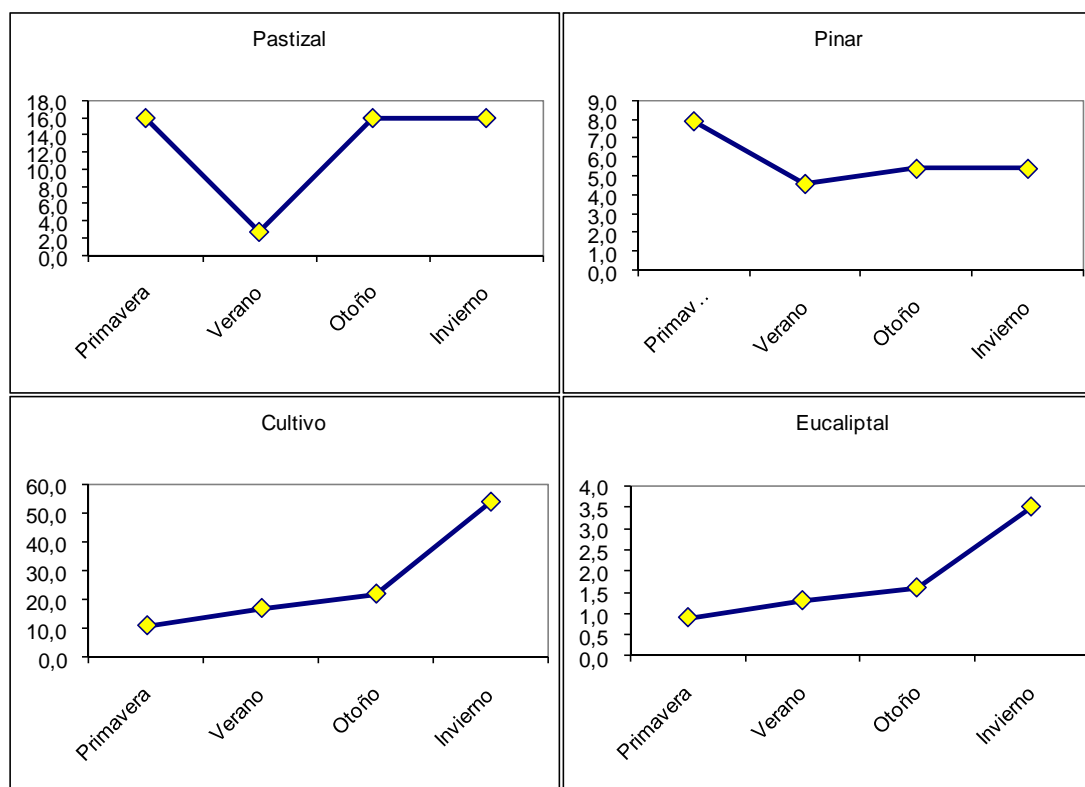


Figura 57. Evolución del NPM a lo largo del año en los diferentes suelos estudiados.

Además se puede establecer una relación entre la calidad de la materia orgánica (Tabla 10) y el NPM (Anexo I). Es decir, las materias orgánicas menos degradadas y más difícilmente degradables como las presentes en los suelos forestales, se relacionan con los valores del NPM más bajos. Y por lo tanto, los valores de contenido en materia orgánica de la Tabla 10 para los suelos forestales deben entenderse en base a una posible acumulación de materia orgánica en diferentes estados de degradación y por lo tanto sólo aprovechable por los microorganismos en un pequeño porcentaje, y como consecuencia no pueden soportar poblaciones de microorganismos importantes, tanto en cantidad como en estructura.

3.6. Resultados de los estudios de calorimetría y análisis térmico.

3.6.1. Resultados de las experiencias por DSC.

En la Figura 58 se presentan las curvas DSC para los cuatro tipos de suelos durante las cuatro estaciones del año. En esta figura, tal y como se comentó anteriormente, se puede observar cómo todas las curvas DSC están caracterizadas por un gran pico

exotérmico correspondiente a la combustión de la materia orgánica del suelo a una temperatura cercana a los 315 °C. Dicho pico es el resultado del solapamiento de dos picos exotérmicos siendo, en nuestro caso, el primero de ellos (EXO 1) mayor que el segundo (EXO 2). Esto indica una mayor presencia en el suelo de materia orgánica termolábil (termodegradable) con respecto a la recalcitrante (más difícilmente termodegradable), mostrándose este último pico en la mayor parte de las ocasiones más como un hombro que como un pico propiamente dicho. La forma de los termogramas obtenidos para los 4 suelos es similar a la obtenida en otros suelos reforestados en Galicia, pero sensiblemente diferente a suelos forestales estables típicos donde predomina el (EXO 2) [20].

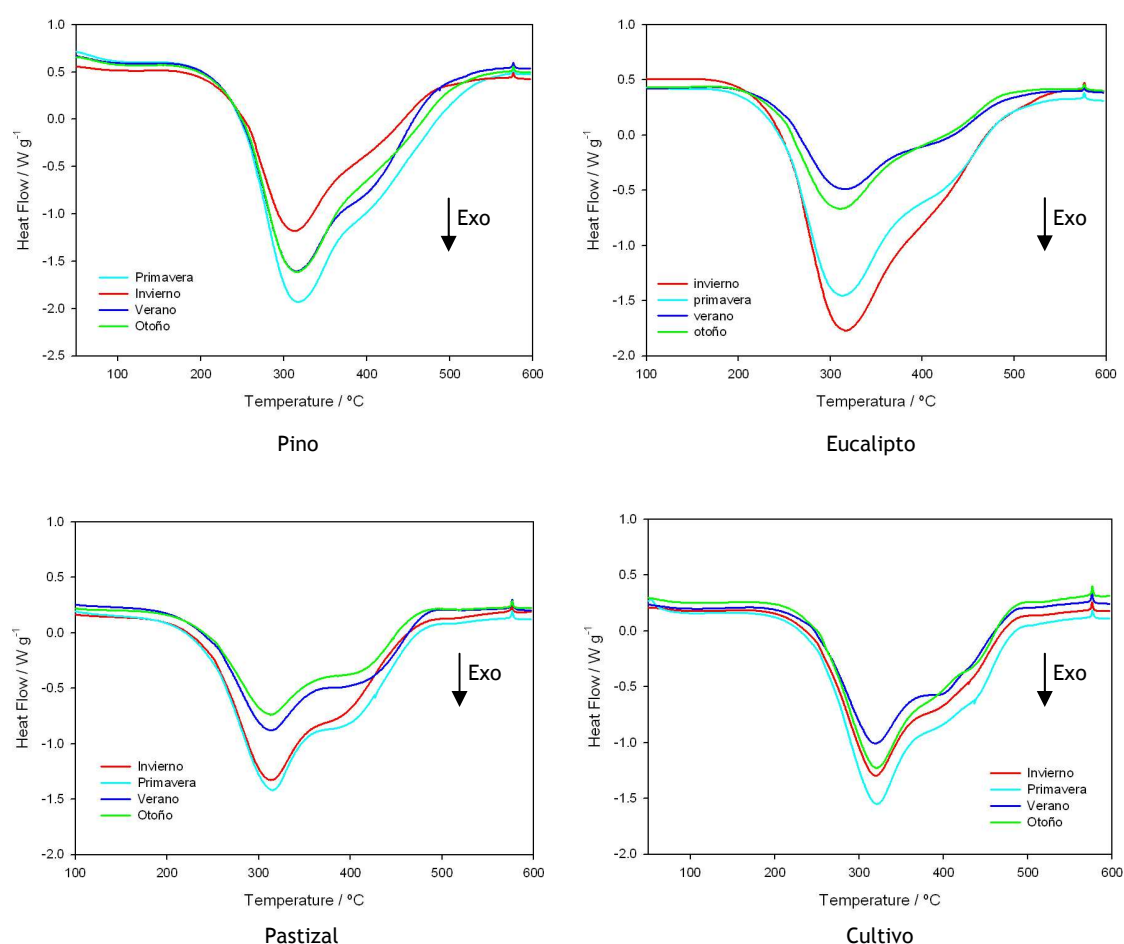


Figura 58. Termogramas de los diferentes tipos de suelos obtenidos mediante DSC para las cuatro estaciones del año.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es lo suficientemente sensible como para detectar cambios en la cantidad y calidad de la materia orgánica en función del uso que se le haya dado al suelo, así como de las variaciones estacionales en los parámetros térmicos del suelo, tal y como se muestra en la Tabla 20 (Anexo II), en donde se recogen los principales parámetros obtenidos sobre dichas curvas

calorimétricas. Si se compara la forma de los termogramas con la evolución del contenido de materia orgánica (Tabla 9) se puede observar la similitud de los mismos con los diferentes porcentajes de materia orgánica. Por ejemplo en el eucalipto las curvas de verano y otoño se corresponden con valores de 8.10 y 6.80 % respectivamente, mientras que las de invierno y primavera lo hacen con valores de 10.80 y 10.30 % respectivamente. En el pastizal las curvas de verano y otoño se corresponden con valores de 7.90 y 7.00 % respectivamente, mientras que las de invierno y primavera lo hacen con valores de 11.80 y 9.50 % respectivamente.

PASTIZAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.5±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	1.8±0.1
T_{ign} (°C)	239±1.0	237±1.0	236±1.0	243±3.0
T_1 (°C)	317±1.0	316±1.0	313±1.0	314±1.0
T_2 (°C)	402±8.0	408±7.0	406±5.0	392±4.0
T_{end} (°C)	515±5.0	508±5.0	495±5.0	500±2.0
T_{50} (°C)	337±3.0	339±2.0	336±3.0	333±3.0
CULTIVO	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.3±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
T_{ign} (°C)	247±1.0	244±1.0	247±1.0	244±1.0
T_1 (°C)	320±1.0	321±1.0	321±1.0	319±1.0
T_2 (°C)	400±5.0	397±8.0	408±8.0	405±5.0
T_{end} (°C)	504±5.0	510±4.0	500±6.0	500±4.0
T_{50} (°C)	341±1.0	340±2.0	341±2.0	340±1.0
EUCALIPTAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.4±0.3	1.2±0.4	0.9±0.1	2.0±0.1
T_{ign} (°C)	239±2.0	235±2.0	235±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	314±1.0	318±2.0	311±2.0	317±2.0
T_2 (°C)	421±1.0	407±10.0	---	418±2.0
T_{end} (°C)	511±12.0	527±9.0	536±6.0	533±5.0
T_{50} (°C)	337±3.0	345±4.0	332±2.0	344±1.0
PINAR	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	2.1±0.2	2.0±0.1	2.0±0.2	1.4±0.1
T_{ign} (°C)	239±3.0	238±1.0	239±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	316±2.0	316±2.0	317±2.0	311±2.0
T_2 (°C)	425±7.0	405±5.0	410±5.0	409±4.0
T_{end} (°C)	550±5.0	560±4.0	565±6.0	560±5.0
T_{50} (°C)	334±2.0	345±2.0	342±2.0	343±2.0

Tabla 19. Resultados obtenidos de las experiencias de DSC. T_{ign} : Temperatura de ignición (°C), Q_{DSC} (kJ g⁻¹): calor total liberado en la combustión de la MO (kJ g⁻¹), T_1 y T_2 : temperaturas de los picos EXO 1 y EXO 2 (°C), T_{end} : Temperatura final (°C) y T_{50} : temperatura a la que se ha liberado el 50 % de la energía asociada a la combustión de la materia orgánica (°C).

En la Tabla 19 se puede observar que:

- El suelo de cultivo no presenta prácticamente variación estacional en todos los parámetros analizados ya que está siendo abonado con productos con una carga orgánica importante con unas propiedades físico-químicas similares todo el año. Así el suelo de cultivo posee los valores de T_{ign} y T_1 más bajos, que se pueden relacionar con materias orgánicas fácilmente termodegradables (lábilas). Por el

contrario, los suelos forestales poseen los mayores valores de Q_{DSC} , T_2 y T_{end} lo que se puede relacionar con materias orgánicas más abundantes, menos degradadas y más termoresistentes (recalcitrantes). El suelo de pastizal muestra, como cabía esperar, un comportamiento medio entre cultivo y forestal (materia orgánica fácilmente degradable y en cantidades estables).

- Los valores del Q_{DSC} se correlacionan perfectamente con los contenidos en materia orgánica de la Tabla 19 (Anexo III), así vemos como el pinar posee los valores más elevados de contenido en materia orgánica y Q_{DSC} , mientras que al cultivo le corresponden los valores mínimos obtenidos para dichos parámetros.

En la Figura 59 se puede ver cómo se calcula de forma gráfica a partir de la curva DSC la temperatura T_{50} para uno de los suelos estudiados.

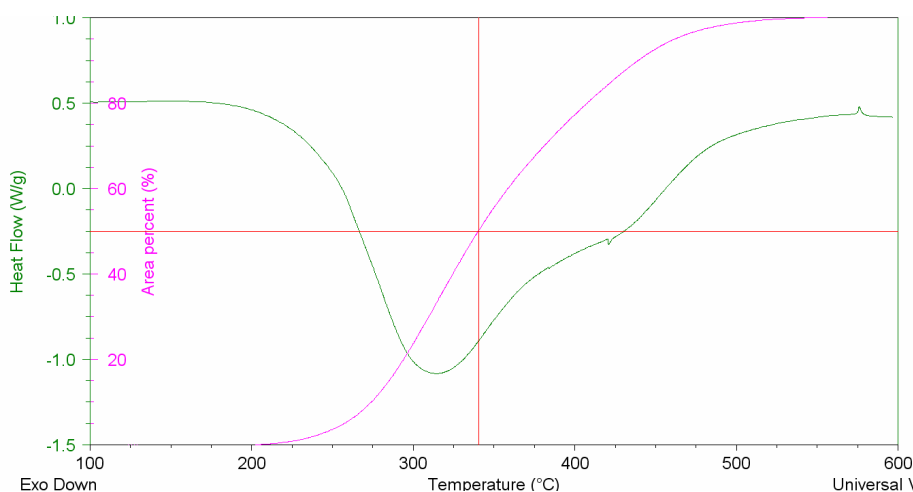
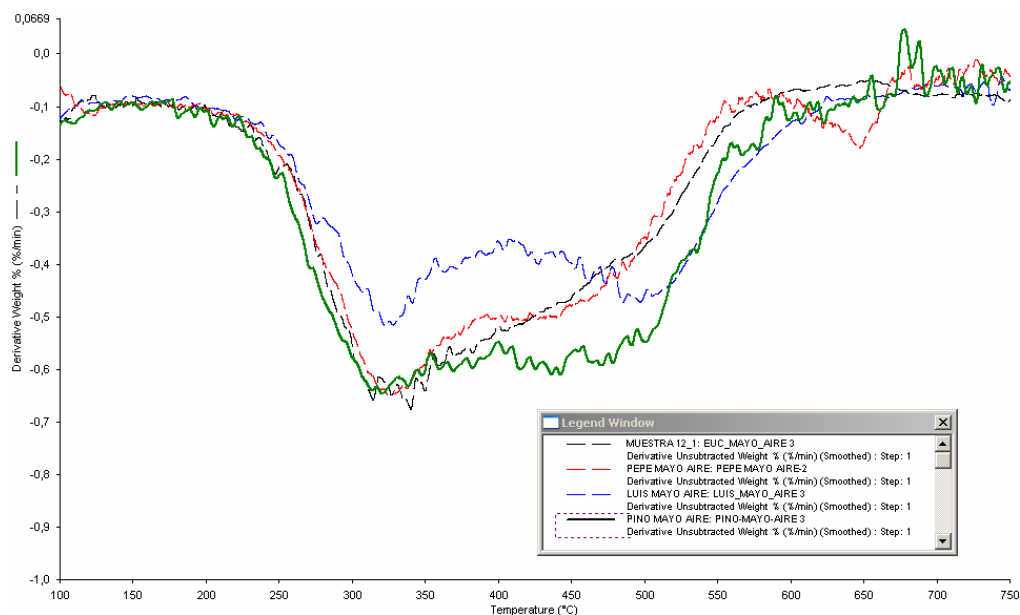
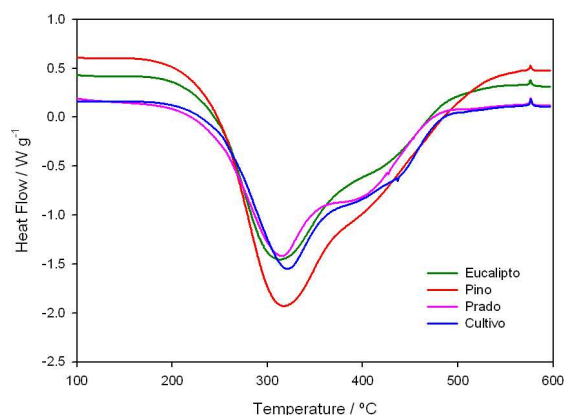


Figura 59. Cálculo gráfico de la T_{50} para el suelo de pastizal en primavera.



Curva DTG para los 4 suelos estudiados durante la primavera.

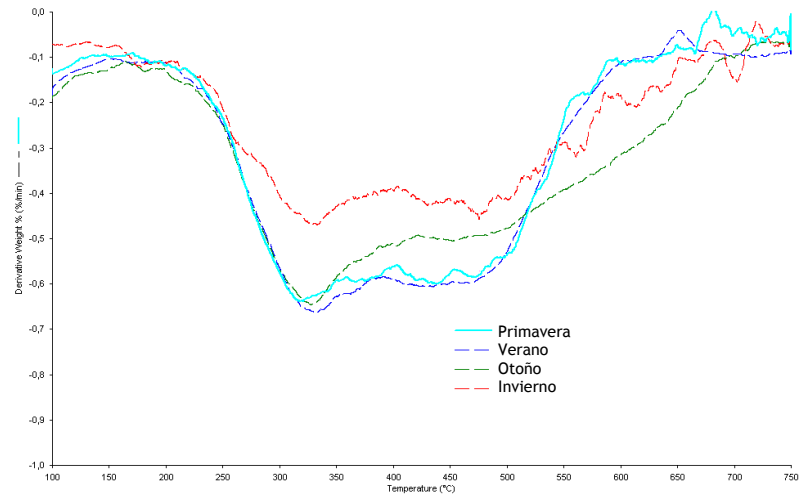


Termogramas DSC para los cuatro suelos estudiados durante la primavera

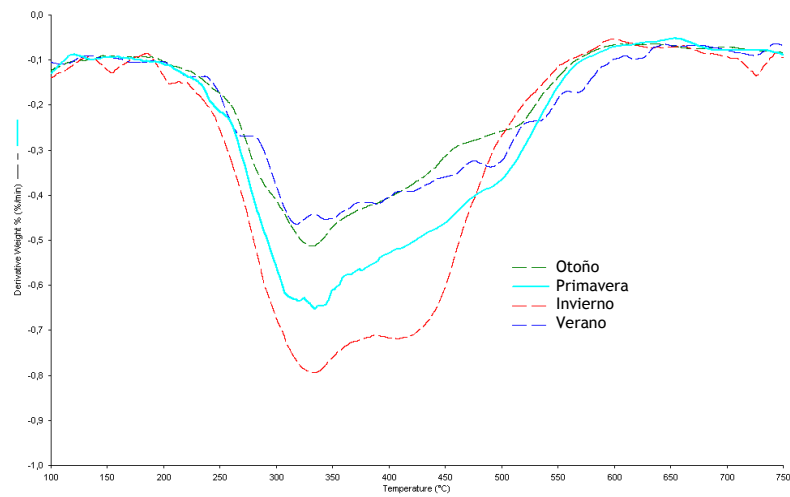
Figura 60. Comparaciones de los termogramas DSC y DTG para los 4 suelos durante la primavera.

3.6.2. Resultados de las experiencias por TG.

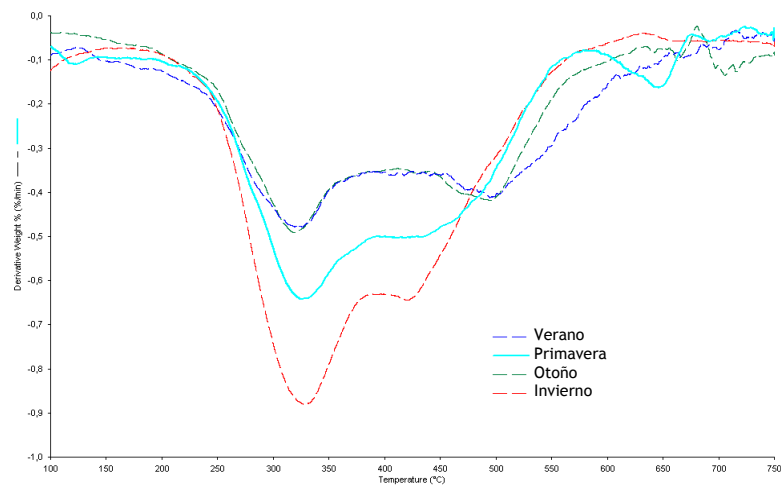
En la Figura 61 se presentan las curvas DTG obtenidas para los cuatro tipos de suelo durante las cuatro estaciones del año mediante la técnica de análisis termogravimétrico (TG).



Pino



Eucalipto



Pastizal

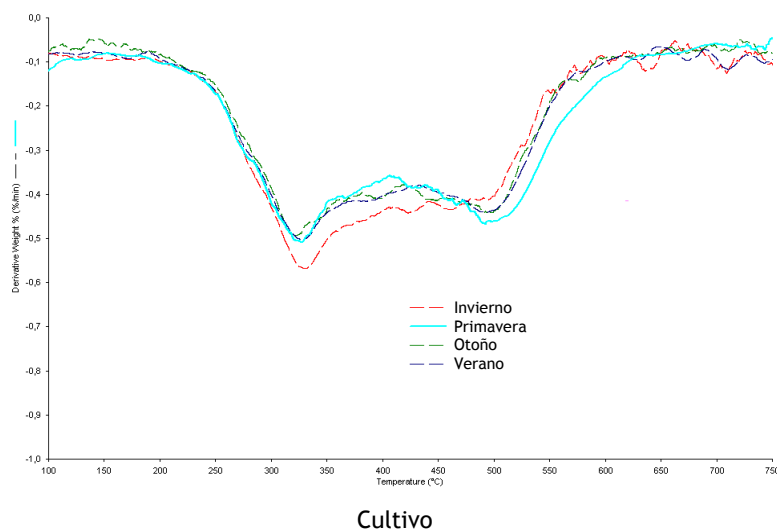


Figura 61. Curvas DTG de los diferentes tipos de suelos para las cuatro estaciones del año.

Como se puede observar, existe una clara analogía entre las formas de las curvas DTG y las de flujo de calor obtenidas por DSC (Figura 58-Anexo IV). Esta semejanza no es de extrañar ya que el contenido en materia orgánica de los suelos se puede determinar como el cambio de masa registrado en un experimento termogravimétrico dinámico en atmósfera de aire y es la combustión de esta materia orgánica la responsable de ese flujo calorífico registrado en un ensayo por DSC. Más adelante se comprobará que existe una perfecta correlación entre las pérdidas de masa registradas por TG y los calores de combustión por gramo de suelo obtenidos por DSC (Figuras 64a-b) así como con los contenidos en carbono que es el principal parámetro indicador del contenido en MO del suelo.

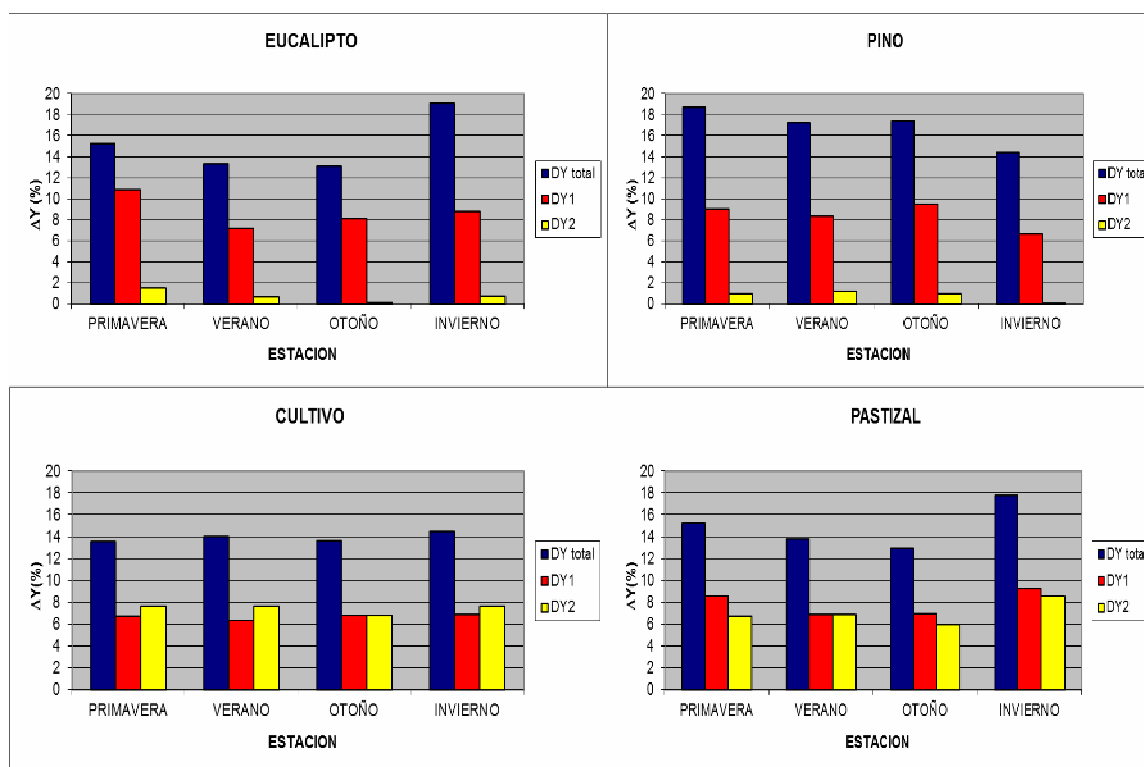


Figura 62. Diagramas de barras presentando los valores de ΔY_1 , ΔY_2 y ΔY_{TOTAL} para los cuatro suelos durante las cuatro estaciones del año.

En la Figura 62 se presentan los valores correspondientes a la pérdida de masa asociada al primer y segundo pico registrados en las curvas DTG, ΔY_1 y ΔY_2 respectivamente, y a la pérdida de masa total calculada entre 200 y 750 °C, ΔY_{TOTAL} . Para definir los intervalos en los que se miden estas pérdidas de masa, se determinan los extremos de los picos sobre la curva derivada, DTG, y se leen dichos cambios de masa sobre la curva original, TG.

En los suelos de pino y eucalypto se ve un predominio claro de la primera caída en masa (rojo) frente a la segunda (en amarillo). Esto se refleja en la curva DTG como un pico acusado a temperaturas bajas y un pico que se adivina a temperaturas más altas. Este comportamiento es coherente con los pequeños “hombros” observados en las curvas de flujo de calor para estos tipos de suelos (Figura 58).

Por el contrario, en las curvas obtenidas por DSC para los suelos de cultivo y pastizal esos “hombros” son mucho más acusados. En las curvas DTG esto se refleja en dos picos parecidos a temperaturas alrededor de 320 y 500 °C respectivamente, lo que justifica valores similares para las pérdidas de masa a altas y bajas temperaturas.

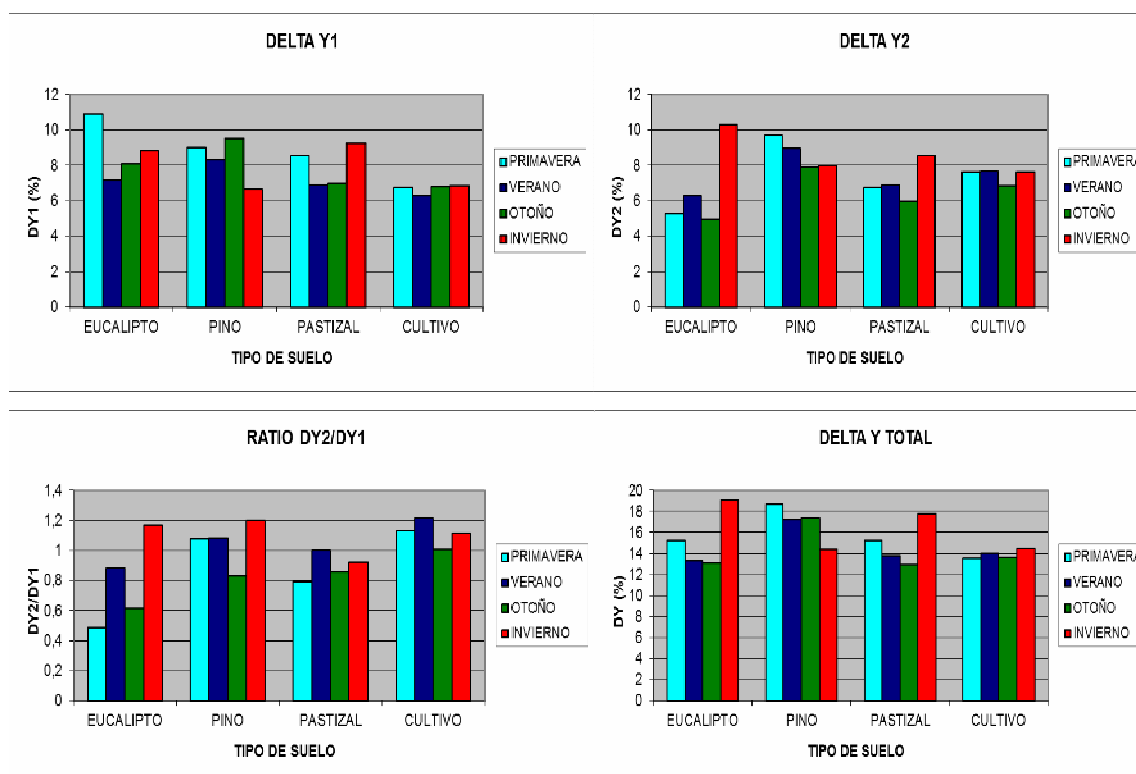


Figura 63. Diagramas de barras presentando los valores de ΔY_1 , ΔY_2 , ΔY_{TOTAL} y la ratio $\Delta Y_2 / \Delta Y_1$, para los cuatro suelos durante las cuatro estaciones del año.

A la vista de los resultados presentados en la Figura 63 se pueden hacer las siguientes observaciones:

- Salvo para el pino, el ΔY_{TOTAL} es máximo en invierno y mínimo en otoño.
- Salvo para el pino los valores de ΔY_1 son mínimos para el verano.
- Salvo para el pino los valores de ΔY_2 son máximos en invierno.
- $\frac{\Delta Y_2}{\Delta Y_1} \geq 1$ para el cultivo y pino salvo en otoño, es decir, predomina el segundo pico que es el que corresponde a la temperatura más alta.
- $\frac{\Delta Y_2}{\Delta Y_1} \leq 1$ para el pastizal y eucalipto salvo en invierno, es decir, predomina el primer pico que es el que corresponde a la temperatura más baja.

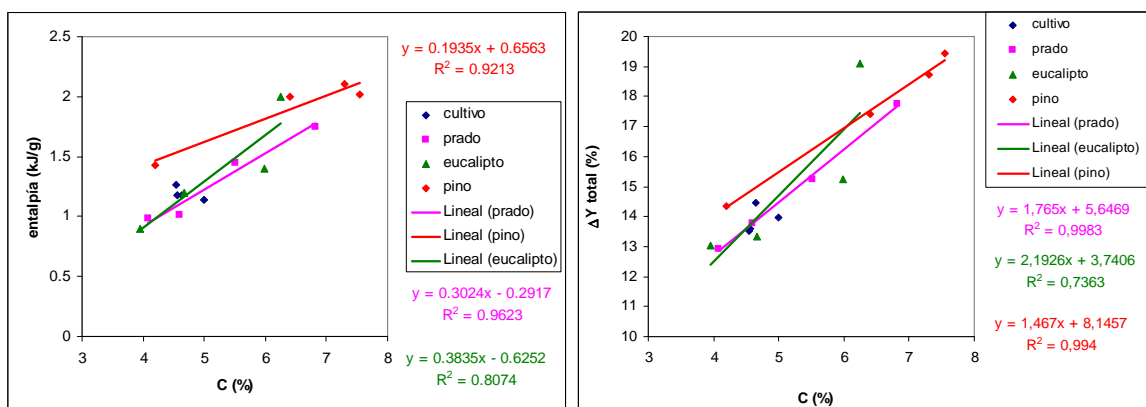


Figura 64. Correlaciones entre el calor de combustión por gramo de suelo (DSC) (a-izquierda) y la pérdida de masa durante la combustión (TG) (b-derecha) con el contenido de carbono.

En la Figura 64 se representan las correlaciones entre el calor de combustión por gramo de suelo (DSC) (a-izquierda) y la pérdida de masa durante la combustión (TG) (b-derecha) con el contenido de carbono. Se puede ver que en ambos casos las correlaciones son muy buenas. Dado que el contenido en carbono es proporcional al contenido en materia orgánica [21], esta buena correlación, tanto con Q_{DSC} como con ΔY , indica que ambas técnicas, DSC y TG, son herramientas adecuadas para determinar la evolución en el contenido en materia orgánica de los suelos.

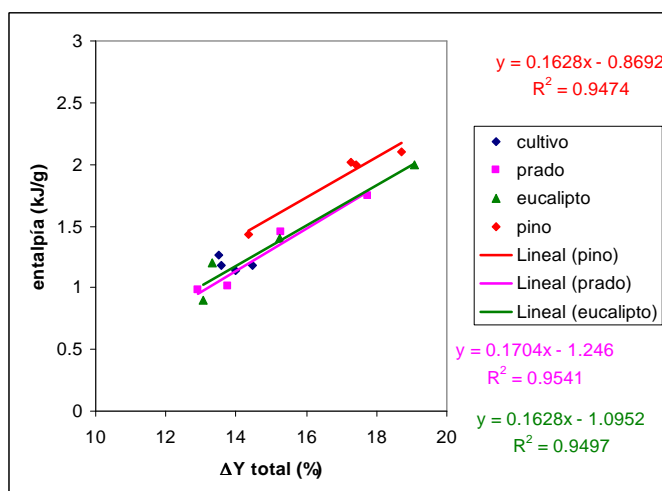


Figura 65. Calor de combustión por gramo de suelo frente a la pérdida total de masa medida por TG.

3.6.3. Resultados de las experiencias por TAM.

	Variables	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Pastizal	μ (h^{-1})	0.0138 \pm 0.0007 (4.8340 %)	0.0451 \pm 0.0012 (2.7330 %)	0.0355 \pm 0.0007 (2.0869 %)	0.0192 \pm 0.0004 (2.2610 %)
	Q_{total} ($kJ\ kg^{-1}$)	5.3503 \pm 0.1755 (3.2795 %)	10.5556 \pm 0.1717 (1.6271 %)	8.3845 \pm 0.2562 (3.0552 %)	5.2513 \pm 0.0781 (1.4866 %)
	$Peak_{height}$ (μW)	0.5516 \pm 0.0123 (2.2329 %)	0.5177 \pm 0.0129 (2.4925 %)	0.4772 \pm 0.0116 (2.4317 %)	0.6651 \pm 0.0109 (1.6358 %)
	$Peak_{time}$ (h)	8.7500 \pm 0.2966 (3.3895 %)	25.1528 \pm 0.6880 (2.7354 %)	30.7143 \pm 0.7771 (2.5300 %)	17.8750 \pm 0.3632 (2.0321 %)
	$Q_{parcial}$ ($kJ\ kg^{-1}$)	0.8427 \pm 0.0303 (3.5948 %)	3.8625 \pm 0.0871 (2.2540 %)	4.5341 \pm 0.1764 (3.8904 %)	1.9973 \pm 0.0071 (0.3572 %)
Cultivo	μ (h^{-1})	0.0878 \pm 0.0023 (2.6123 %)	0.1057 \pm 0.0044 (4.1682 %)	0.1121 \pm 0.0012 (1.0764 %)	0.1068 \pm 0.0031 (2.9440 %)
	Q_{total} ($kJ\ kg^{-1}$)	3.3098 \pm 0.0184 (0.5566 %)	3.2789 \pm 0.0718 (2.1891 %)	3.7917 \pm 0.0531 (1.4003 %)	3.3468 \pm 0.0794 (2.3727 %)
	$Peak_{height}$ (μW)	0.4386 \pm 0.0197 (4.4937 %)	0.5656 \pm 0.0245 (4.3356 %)	0.4089 \pm 0.0184 (4.5104 %)	0.3804 \pm 0.0149 (3.9168 %)
	$Peak_{time}$ (h)	18.2500 \pm 0.5578 (3.0563 %)	18.6875 \pm 0.8697 (4.6539 %)	21.0417 \pm 0.8768 (4.1669 %)	19.1500 \pm 0.5755 (3.0055 %)
	$Q_{parcial}$ ($kJ\ kg^{-1}$)	2.0986 \pm 0.0830 (3.9564 %)	2.2117 \pm 0.0556 (2.5132 %)	1.8047 \pm 0.0436 (2.4152 %)	1.7020 \pm 0.0299 (1.7563 %)
Eucaliptal	μ (h^{-1})	0.0129 \pm 0.0006 (4.2939 %)	0.0319 \pm 0.0013 (4.2005 %)	0.0111 \pm 0.0012 (1.0764 %)	0.0122 \pm 0.0003 (2.7197 %)
	Q_{total} ($kJ\ kg^{-1}$)	4.8991 \pm 0.1035 (2.1130 %)	19.0173 \pm 0.3639 (1.9133 %)	4.0826 \pm 0.1244 (3.0469 %)	4.7948 \pm 0.1999 (4.1691 %)
	$Peak_{height}$ (μW)	0.5009 \pm 0.0034 (0.6854 %)	0.7402 \pm 0.0192 (2.5931 %)	0.3837 \pm 0.0048 (1.2434 %)	0.4538 \pm 0.0087 (1.9194 %)
	$Peak_{time}$ (h)	29.6190 \pm 0.7933 (2.6783 %)	29.0278 \pm 0.9275 (3.1951 %)	37.3889 \pm 0.4763 (1.2739 %)	19.8333 \pm 0.9393 (4.7358 %)
	$Q_{parcial}$ ($kJ\ kg^{-1}$)	2.7011 \pm 0.0943 (3.4901 %)	7.5744 \pm 0.3653 (4.8231 %)	2.4168 \pm 0.0782 (3.2358 %)	1.5761 \pm 0.0587 (3.7262 %)
Pinar	μ (h^{-1})	0.0149 \pm 0.0006 (4.1974 %)	0.0397 \pm 0.0019 (4.8842 %)	0.0196 \pm 0.0006 (3.0948 %)	0.0254 \pm 0.0008 (3.3257 %)
	Q_{total} ($kJ\ kg^{-1}$)	14.3733 \pm 0.6203 (4.3155 %)	11.7052 \pm 0.5538 (4.7309 %)	11.5324 \pm 0.4258 (3.692 %)	9.6844 \pm 0.3505 (3.6194 %)
	$Peak_{height}$ (μW)	0.6542 \pm 0.0172 (2.6321 %)	0.6195 \pm 0.0088 (1.4154 %)	0.6132 \pm 0.0059 (0.9704 %)	0.5953 \pm 0.0259 (4.3581 %)
	$Peak_{time}$ (h)	26.8667 \pm 0.5640 (2.0991 %)	54.8056 \pm 2.5004 (4.5623 %)	32.7667 \pm 0.9343 (2.8514 %)	27.6389 \pm 0.2871 (1.0386 %)
	$Q_{parcial}$ ($kJ\ kg^{-1}$)	7.7257 \pm 0.2181 (2.8229 %)	7.5888 \pm 0.3633 (4.7872 %)	7.3560 \pm 0.2981 (4.0521 %)	5.1116 \pm 0.1133 (2.2173 %)

Tabla 20. μ (h^{-1}): constante de crecimiento microbiano, Q_{total} ($kJ\ kg^{-1}$): calor total generado durante la experiencia microcalorimétrica, $Q_{parcial}$ ($kJ\ kg^{-1}$): calor generado hasta $Peak_{height}$ (μW): punto máximo de producción de potencia térmica y el $Peak_{time}$ (h): tiempo en alcanzar el $Peak_{height}$. El resultado se expresa de la siguiente manera: 0.6542 \pm 0.0172 (2.6321 %), donde 0.6542 es el valor medio calculado a partir de 4 experiencias microcalorimétricas, 0.0172 la desviación estándar, y (2.6321 %) el porcentaje de error.

Analizando los datos recogidos en la Tabla anterior se pueden hacer unas consideraciones generales acerca de los cuatro tipos de suelos (Anexo I):

- En el caso del suelo de pastizal se puede observar cómo los valores de Q_{total} más elevados son durante los meses de verano y otoño. En estos periodos del

año los valores de Q_{total} discurren paralelos o guardan relación con los de la temperatura, $Peak_{time}$, $Q_{parcial}$, y μ , poniendo de manifiesto la importancia de la temperatura en este tipo de suelos. Por otro lado los valores de Q_{total} evolucionan de forma opuesta a los del NPM, la humedad, el $Peak_{height}$ y el pH. Posiblemente, la explicación a este proceso sea que los microorganismos presentes en los suelos de pasto en estas condiciones sean hongos y actinomicetos ya que se alimentan de los colonizadores primarios y de restos de material residual vegetal que a la llegada del verano pueden degradar más fácilmente con el aumento de la temperatura. A la vez, la pérdida de humedad reduce la capacidad de crecimiento y reproducción de las algas y bacterias, mucho más numerosas en otras épocas pero también con una menor capacidad de generación de calor. Estos valores pueden ser apoyadas por los datos de $Peak_{time}$ y μ , mucho mayores en los meses de verano y otoño.

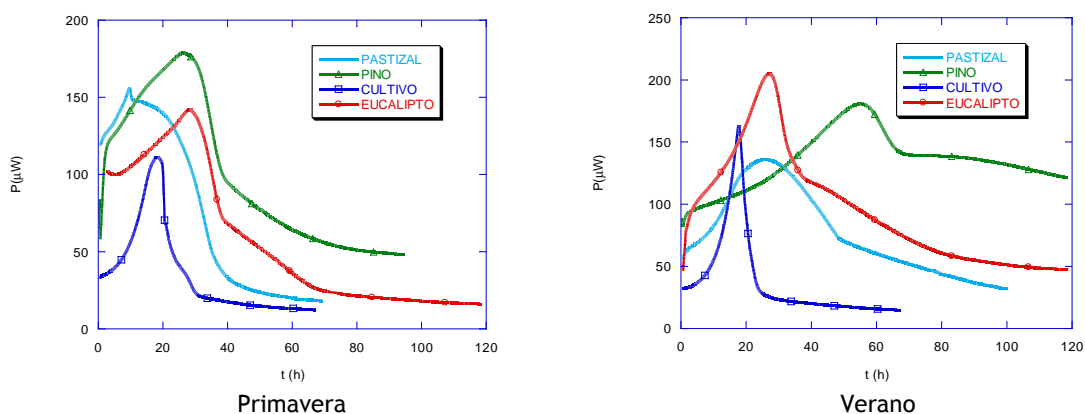
- El suelo de cultivo, tal y como se esperaba, es el suelo con un comportamiento más estable. Así se puede observar como el Q_{total} , $Q_{parcial}$, $Peak_{time}$, pH, temperatura y μ evolucionan de forma semejante. Como curiosidades, observar la evolución paralela del $Peak_{height}$ y la temperatura, frente a la humedad, que como norma evoluciona de forma contraria a la temperatura. En este tipo de suelos las comunidades de microorganismos dependen de los cuidados del suelo y de los ciclos productivos debido a la selección y especialización de los mismos, y por lo tanto obtener conclusiones de su evolución estacional o relacionarlos con cualquier otro parámetro estudiado es difícil. Este tipo de comportamiento de los microorganismos puede analizarse en base a los datos de $Peak_{time}$ y de μ . Estos datos son similares a lo largo del año.
- Los suelos de eucaliptal muestran relaciones muy globales y sencillas entre los diferentes parámetros estudiados. Así tenemos como Q_{total} , $Peak_{height}$, $Q_{parcial}$, pH, μ y la temperatura evolucionan paralelamente frente a $Peak_{time}$ y humedad. Así vemos una cierta dependencia del comportamiento de los microorganismos en función de la temperatura. Esto unido al pH extremadamente ácido de este tipo de suelos limita mucho la diversidad de los microorganismos presentes en él, punto que se puede entender analizando los valores estables en el Q_{total} , $Peak_{time}$ y $Peak_{height}$. Esto hace que este tipo de suelos reflejen la menor producción de Q_{total} a lo largo del año excepto en los meses de verano.
- El suelo con valores de Q_{total} más elevado es el suelo de pinar. De la misma manera se observa una estabilidad importante en los valores del Q_{total} , del

Q_{parcial} y del $\text{Peak}_{\text{height}}$ a lo largo del año. También existen relaciones muy claras entre la temperatura, el $\text{Peak}_{\text{time}}$ y μ , frente a la humedad, el Q_{total} , el $\text{Peak}_{\text{height}}$, pH, Q_{parcial} y el NPM. Al igual que en los otros suelos la evolución de μ está muy ligada a la temperatura. Los valores del $\text{Peak}_{\text{time}}$ evolucionan en el suelo de pinar de forma similar al eucaliptal, y sólo en verano, y como consecuencia principal de la propia estructura de los suelos de pinar, mucho más vulnerables a las variaciones de temperatura, el valor del $\text{Peak}_{\text{time}}$ se dispara.

De forma general se puede ver cómo el cambio de los principales parámetros evolucionara por grupos excepto en el pinar. Así tenemos, de forma general, que los valores de Q_{total} , Q_{parcial} , y μ evolucionan en sentido opuesto a los valores de NPM y humedad.

En todos los suelos la μ evoluciona de forma paralela a la temperatura y opuesta a la humedad.

De forma global, los resultados del Q_{total} , y del Q_{parcial} coinciden con los obtenidos mediante DSC (Q_{DSC})(Anexo V) dejando constancia así tanto de la relación de la evolución de la materia orgánica con la población microbiana del suelo, como de la complementariedad de las técnicas de TAM, DSC y TG.



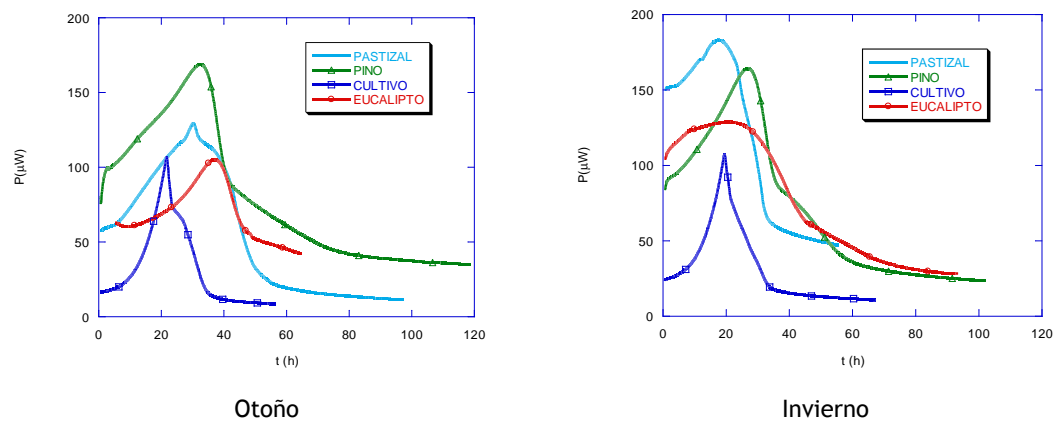


Figura 66. Termogramas TAM comparativos de los 4 tipos de suelos por estación.

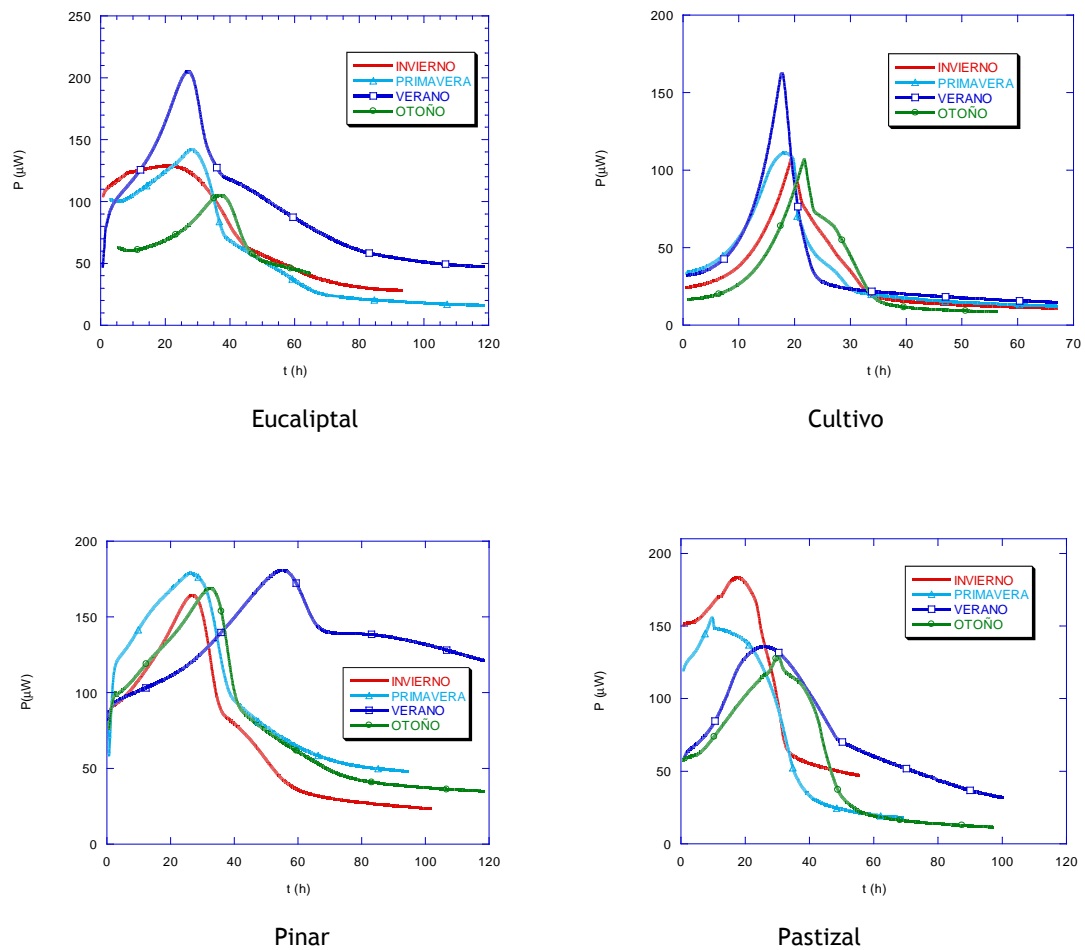


Figura 67. Termogramas TAM comparativos para cada uno de los tipos de suelo por estaciones.

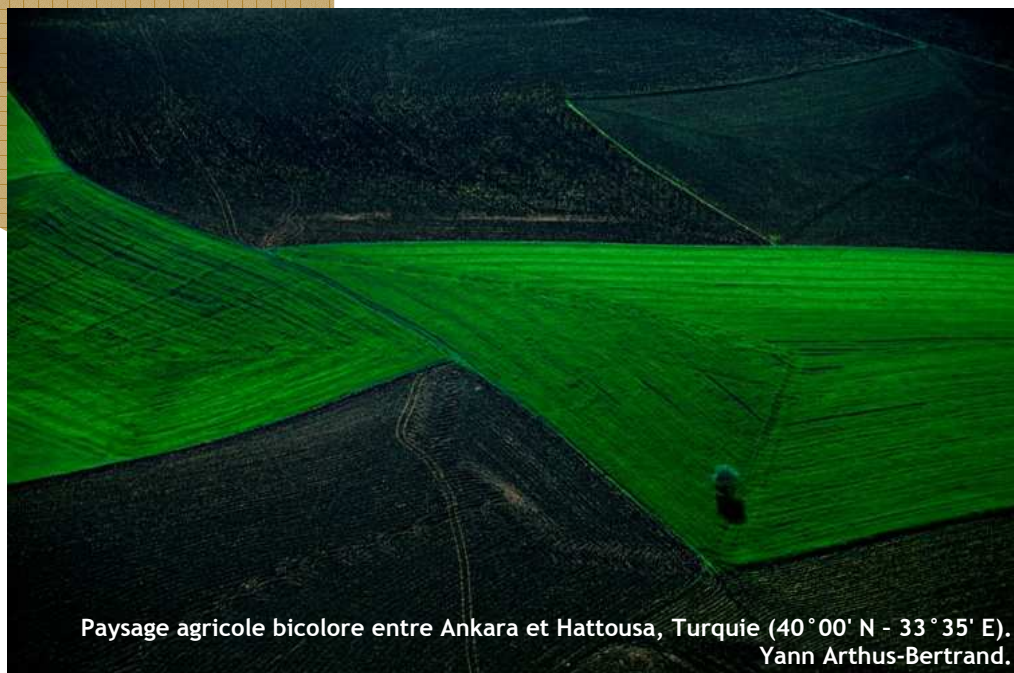
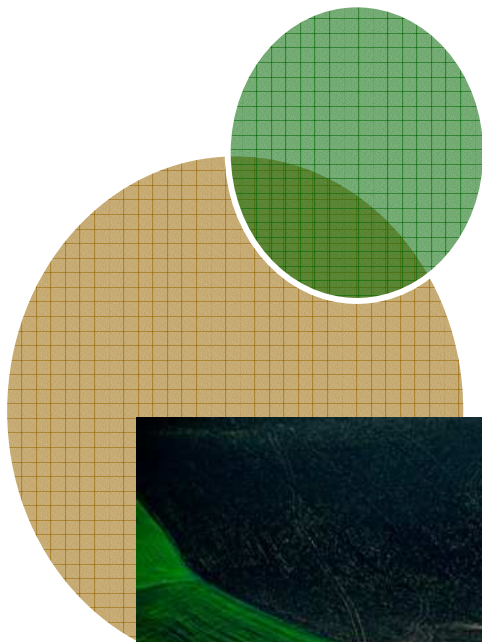
En los termogramas obtenidos del TAM se puede observar que:

- Los suelos de cultivo y pastizal son los de menor generación de calor durante todo el año aunque los más estables. Además poseen un $\text{Peak}_{\text{time}}$ más bajo, es decir, un desarrollo más rápido de su comunidad microbiana posiblemente debido, en el caso del pastizal, a lo simple de la misma y por lo tanto muy dependiente de factores ambientales como temperatura y humedad, y en el caso del suelo de cultivo a lo especializado de su comunidad microbiana.
- De forma general los suelos forestales poseen la mayor generación de calor y el $\text{Peak}_{\text{time}}$ mayor a lo largo del año, es decir, comunidades microbianas no tan dependientes de parámetros ambientales y con un grado de desarrollo mayor tanto en tipo como en cantidad de microorganismos [11].
- Los suelos forestales son los que más tiempo tardan en alcanzar la fase de muerte, en torno a las 80 horas, frente a los suelos de pastizal y cultivo que tardan a penas 40 horas. Esto refuerza la conclusión sobre la estructura de la comunidad microbiana en los suelos forestales, mucho más desarrollada y menos dependiente de los parámetros climáticos.
- Durante el verano, excepto en el pastizal, y probablemente debido a la influencia de la elevada temperatura y baja humedad en este periodo, todos los suelos presentan un $\text{Peak}_{\text{height}}$ mayor.
- Por otro lado, los termogramas más estables a lo largo del año, con la salvedad del verano, son los de los suelos de cultivo y de pinar.

3.7. Bibliografía.

- [1] Montero de Burgos, J. L., González Rebollar, J. L., Diagramas Bioclimáticos. Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza. Madrid (1983)
- [2] <http://www.meteogalicia.es/web/index.action>.
- [3] Rivas Martínez, S. Series de vegetación de la región eurosiberiana de la Península Ibérica. Lazaroa (1983)
- [4] Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Tercer Inventario Forestal Nacional. 1997-2006. Ed. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid /2000)
- [5] Cobertera, E. Edafología Aplicada. Ed. CÁTEDRA. Madrid (1993)
- [6] Precedo Ledo, A., Sancho Comíns, J. Atlas de Galicia. Tomo I: Medio Natural. Ed. Sociedade para o Desenvolvemento Comarcal de Galicia. Santiago de Compostela (2001)
- [7] Bohm, H. L., McNeal, B. y O'Connor, G. Química del suelo. Ed. LIMUSA-Grupo Noriega Editores. México (1993)
- [8] Baver, L. D., Gardner, W. H., y Gardner W. R. Física de Suelos. Ed. UTEHA-Grupo Noriega Editores. México (1991)
- [9] Costet, J. y Sanglerat, G. Curso práctico de mecánica de suelos. Ediciones OMEGA. Barcelona (1975)
- [10] Whitlow, R. Fundamentos de mecánica de suelos. Ed. CECSA. México (1994)
- [11] Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín-Castiñeiras, J., Núñez-Fernández, O., Villanueva M. Soil Biology & Biochemistry, 38, 115 (2006)
- [12] Núñez-Regueira, L., Núñez-Fernández, O., Rodríguez Añón, J. A., Proupín Castiñeiras, J. Thermochemica Acta, 394, 123 (2002)
- [13] Núñez-Regueira, L., Rodríguez Añón, J. A., Proupín Castiñeiras, J., Núñez-Fernández, O. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 80, 35 (2005)
- [14] Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín-Castiñeiras, J., Villanueva-López, M. and Núñez-Fernández, O. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 84 1, 7 (2006)
- [15] Porta, J., López-Acevedo, M., y Roquero, C. Edafología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid (1999)
- [16] Esperanza Álvarez Rodríguez. Recursos Rurais. Serie Cursos 1. IBADER. (2004)
- [17] Wenzel, W.W. Effects of fluorine and heavy metal pollution in the vicinity of an aluminium smelter o their functions. Tesis. Universitaet fuer Bodenkultur Wien (1990)
- [18] Healy, J., Brandley, S.D., Northage,C., Scobbie, E. Annals of Occupational Hygiene. 45, 217 (2001)
- [19] <http://www.vitoria-gasteiz.org/w24/docs/ceac/siam/tabmetod/geoedafo/caledaf.pdf>
- [20] Salgado, J., Mato, M. M., Vázquez-Galiñanes A., Paz-Andrade M. I., Carballas T. Thermochemica Acta, 410, 141 (2004)
- [21] Guitián Ojea, F., Carballas Fernández, T. Técnicas de análisis de suelos. Editorial Pico Sacro. Santiago de Compostela (1976)

Capítulo 4. Conclusiones.



Paysage agricole bicolore entre Ankara et Hattousa, Turquie (40°00' N - 33°35' E).
Yann Arthus-Bertrand.

Capítulo 4. Conclusiones.

4. Conclusiones 139

4. Conclusiones.

La **caracterización climática** debe ser el primer paso para el diseño de cualquier estudio en los suelos, y para ello los diagramas bioclimáticos son una herramienta básica para representar conjuntamente los parámetros que más pueden influir en la población microbiana de un suelo. El diagrama bioclimático de la zona de trabajo nos asegura que la productividad de los suelos estudiados, y por lo tanto su población microbiana, en ningún momento a lo largo del año debería estar limitada por la temperatura o por la disponibilidad hídrica.

El **estudio de las propiedades físico-mecánicas** en los suelos aporta una información fundamental tanto del estado del suelo en el momento del estudio o fertilidad propia, como de las medidas a desarrollar para evitar su degradación y recuperar el suelo de forma rápida y eficaz. Así se pueden desarrollar procesos de corrección del pH en suelos ácidos mediante la adición de cal de forma racional para evitar problemas con la estructura, modificaciones de la textura y estructura para mejorar la conductividad hidráulica, la función de tampón térmico, la capacidad de retención de agua, o la porosidad con vistas a mejorar la productividad agrícola. Los análisis de las propiedades físico-mecánicas de los suelos estudiados se mueven dentro de valores razonablemente adecuados, y por lo tanto no deberían tener influencia alguna sobre la población microbiana de los mismos.

Los **análisis químicos**, aparte de complementar el estudio, aportan valiosa información sobre elementos químicos que bien por exceso como por defecto pudiesen limitar o impedir el desarrollo de las comunidades microbianas en los suelos, y por lo tanto influir en la productividad de los mismos, o lo que es lo mismo, sobre su fertilidad física. En los suelos estudiados los valores de todos los elementos químicos analizados se mueven dentro de rangos razonablemente adecuados pudiendo así obviar la composición química de los suelos como una variable que pueda afectar de manera significativa al crecimiento microbiano a lo largo del año en los suelos estudiados. Dentro de estos resultados sólo las concentraciones de S, Al y de Cl son un poco superiores a las consideradas como adecuadas pudiendo limitar la producción vegetal y tener influencia en el pH, y por lo tanto en la disponibilidad de macro y micronutrientes para las plantas.

Los factores que más afectan a la **evolución del NPM** en los suelos estudiados son el pH, la temperatura y la humedad, principales parámetros reconocidos como básicos junto con la aireación y la luz para la fase viva de los suelos de todo el mundo. Además se pone de manifiesto una relación entre la calidad de la materia orgánica y el NPM y que hace que las materias orgánicas menos degradadas y más difícilmente degradables como las presentes en los suelos forestales, se relacione con los valores del NPM más bajos.

La **calorimetría diferencial de barrido (DSC)**, debido a su elevada sensibilidad, permite detectar tanto los cambios en la cantidad como en la calidad (termolábil y recalcitrante) de la materia orgánica de los diferentes suelos, y relacionar éstos con el uso al que están sometidos. Los termogramas obtenidos mediante DSC dan una idea rápida y clara del estado de la materia orgánica en los suelos, ayudando a establecer procesos de enmienda para mejorar su productividad, optimizar procesos de recuperación o evitar degradaciones por déficit de materia orgánica.

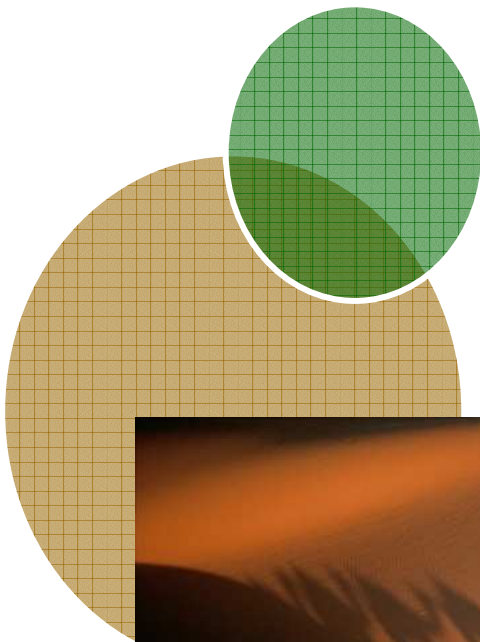
Los termogramas obtenidos mediante **análisis termogravimétrico (TG)** presentan una semejanza manifiesta con las de flujo de calor obtenidas mediante DSC. Esta analogía se refuerza con la correlación entre las pérdidas de masa registradas por TG y los calores de combustión por gramo de suelo obtenidos por DSC y con los contenidos en carbono. Por lo tanto se puede decir que DSC y TG son herramientas de trabajo adecuadas para determinar la evolución en el contenido en materia orgánica de los suelos.

El **microcalorímetro isotérmico TAM 2277** nos permite realizar medidas ultrasensibles de flujo de calor que complementan las obtenidas por DSC y TG. De los resultados obtenidos mediante esta técnica se puede concluir que los valores de Q_{total} , $Q_{parcial}$, y μ evolucionan de forma paralela con la temperatura y en sentido opuesto a los valores de NPM y humedad. Los resultados del Q_{total} y del $Q_{parcial}$ coinciden con los obtenidos mediante DSC (Q_{DSC}), lo que pone de manifiesto la relación que existe entre la evolución de la materia orgánica con la población microbiana del suelo, y que refleja la complementariedad de las técnicas de TAM, DSC y TG. Los termogramas obtenidos mediante el TAM son un material de trabajo eficaz, rápido y fácilmente interpretables que se puede utilizar tanto para solucionar problemas de fertilidad propia y física en suelos, como para evaluar su estado de salud en función de la evolución de la población de microorganismos.

Por lo tanto, y como **conclusión final**, el procedimiento experimental propuesto combinando estudios climático-ambientales, físico-dinámicos, químicos, biológicos con técnicas de calorimetría y análisis térmico, y a la vista de los resultados obtenidos, se presenta como muy efectivo para diagnosticar el estado de salud de cualquier tipo de suelo. Una vez optimizado un poco más el proceso experimental, desde el ajuste de los métodos analíticos utilizados hasta la introducción de nuevas técnicas como la Resonancia Magnético Nuclear (NMR), la caracterización de las comunidades microbianas o la respirometría “in situ”, será una herramienta decisiva a la hora de:

- Diseñar procesos de explotación racional y sostenible del suelo y de todos los recursos presentes en el mismo: mejora en la cantidad y calidad de las cosechas o establecimiento de condiciones adecuadas para plantaciones de cultivos energéticos.
- Implementar procesos de protección ajustados a cada tipo de suelo y situación. Con ello se mejorarían el rendimiento económico y temporal de este tipo de procesos habitualmente largos y costosos.
- Preservar recursos estratégicos y espacios de interés para mantener y mejorar nuestros bosques como espacios de ocio y esparcimiento.
- Regenerar y recuperar los suelos frente a agresiones naturales o de origen antrópico como diferentes procesos erosivos, incendios forestales o posibles episodios de contaminación diversa.
- Estudios relacionados con la selección de mejores escenarios para maximizar la función de sumidero del suelo a la hora de la captación de CO₂ y generar soluciones globales dentro del Protocolo de Kyoto.

Glosario.



Caravane de dromadaires aux environs de Nouakchott, Mauritanie (18° 09' N - 15° 29' O).
Yann Arthus-Bertrand.

Glosario.

A

A: Sustancia A en una reacción.
 (A): Ácido, caracterización de un suelo en función de su pH.
 AB*: Complejo activado en una reacción mediada por enzimas.
 Ag: Agua, porosidad.
 Ai: Aire, porosidad.
 A (micro): Muestra recogida para las experiencias de TAM, DSC y TG.
 ASTM: American Society for Testing Materials.
 At: Atterberg, Test para la determinación del límite plástico de un suelo.

B

B: Sustancia B en una reacción.
 B (prop): Muestra recogida para el análisis de las propiedades físicas, biológicas y químicas.
 bcu: Unidades bioclimáticas en un diagrama bioclimático.

C

C: Casagrande, Test para la determinación del límite líquido de un suelo.
 Cap: Capacidad de absorción de agua en volumen.
 C_c: Capacidad calorífica.
 CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico en un suelo.
 C/N: Relación Carbono/Nitrógeno.
 C/S: Relación Carbono/Azufre.
 c_p: Calor específico a presión constante.

D

dG: Energía libre de Gibbs.
 dH: Variación de entalpía.
 DH: disponibilidad hídrica (mm) en un diagrama bioclimático.
 dQ: calor.
 DSC (Differential Scanning Calorimetry): Calorimetría Diferencial de Barrido; también calorímetro que usa esta técnica.
 dt: Tiempo.
 dT: Temperatura.
 DTG: Derivada de la función obtenida por técnicas termogravimétricas
 DV: Días de viento (mes⁻¹) en un diagrama bioclimático.

E

(E): Enzima libre.
 (EA): Extremadamente Ácido, caracterización de un suelo en función de su pH.
 (ES): Enzima-sustrato.
 [E]: Concentración enzima.
 [E_T]: Concentración total del enzima.
 [ES]: Concentración de complejo enzima-sustrato.
 ETP: Evapotranspiración potencial (mm) en un diagrama bioclimático.
 ETR: Evapotranspiración residual (mm) en un diagrama bioclimático.

Exo: Exotérmico, en termogramas DSC.

EXO 1: Primer pico exotérmico en los termogramas del DSC, relacionado con la presencia de materia orgánica termolábil.

EXO 2: Segundo pico exotérmico en los termogramas del DSC, relacionado con la presencia de materia orgánica recalcitrante.

F

F: Finos, en la clasificación textural.

(FA): Fuertemente Ácido, caracterización de un suelo en función de su pH.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

G

G: Gruesos, en la clasificación textural.

H

H: Humedad (%) en un diagrama bioclimático.

Ha: Humedad ambiental (%) en un diagrama bioclimático.

HS: Horas de sol año⁻¹ en un diagrama bioclimático.

Hs: Humedad del suelo (%) en un diagrama bioclimático.

I

I: Insolación (%) en un diagrama bioclimático.

IBL: Intensidad Bioclimática Libre o intensidad climática en un periodo sin limitación hídrica (bcu) en un diagrama bioclimático.

IBP: Intensidad Bioclimática Potencial (bcu) en un diagrama bioclimático.

In: Índice de plasticidad de un suelo.

ISSS: International Society of Soil Science.

K

(k_i): Constantes de velocidad en una reacción química mediada por enzimas.

k_m : Constante de Michaelis-Menten.

M

m: Masa.

(MA): Medianamente Ácido, caracterización de un suelo en función de su pH.

m_f : Masa correspondientes a la temperatura T_f en una experiencia de TG.

MG: Muy Gruesos, en la clasificación textural.

m_i : Masa correspondientes a la temperatura T_i en una experiencia de TG.

M_L : Pérdida porcentual de masa en una experiencia de TG.

MOR: Moderadamente rápida, conductividad hidráulica.

MR: Muy rápida, conductividad hidráulica.

m_s : Masa de la muestra antes de la experiencia de DSC.

N

N: Número de células o microorganismos.

NMR: Resonancia Magnético Nuclear.

N_o : Número inicial de microorganismos.

NPM: Número más Probable de Microorganismos ($\times 10^6$).

O

ONU: Organización de las Naciones Unidas.

P

P: Precipitación (mm) en un diagrama bioclimático.

(P): Producto en una reacción química.

Pe: Pendiente de la zona ($^{\circ}\%$).

Peak_{height}: Punto máximo de producción de potencia térmica durante la experiencia microcalorimétrica en el TAM (μW).

Peak_{time}: Tiempo en alcanzar el Peak_{height} durante la experiencia microcalorimétrica en el TAM (h).

pF2: Potencial de succión de las plantas.

P_o: Potencia calorífica al comienzo de la fase exponencial.

P_t: Potencia calorífica disipada por el cultivo celular durante la fase de crecimiento exponencial.

Q

Q_{DSC}: Calor total generado durante una experiencia de DSC (kJ g^{-1}).

Q_{parcial}: Calor generado (kJ kg^{-1}) hasta Peak_{height} (μW) durante la experiencia microcalorimétrica en el TAM.

Q_{total}: Calor total generado durante la experiencia microcalorimétrica en TAM (kJ kg^{-1}).

R

R: Residuo en una experiencia de TG.

Ra: Rápida, conductividad hidráulica.

S

[S]: Concentración sustrato en una reacción.

SO: Suelos Orgánicos.

T

T: Total, porosidad.

Ta: Temperatura ambiental ($^{\circ}\text{C}$) en un diagrama bioclimático.

TAM: Thermal Activity Monitor.

T_C: Temperatura punto de Curie.

T_f: Temperatura de descomposición final en una experiencia TG.

T_i: Temperatura de descomposición inicial en una experiencia TG.

T_{end}: Temperatura final ($^{\circ}\text{C}$) de las experiencias de DSC.

TGA (Thermal Gravimetric Analysis): análisis termogravimétrico

TG: Experiencia de termodegradación.

T_{ign}: Temperatura de ignición ($^{\circ}\text{C}$) de la materia orgánica en las experiencias de DSC.

TM: Temperatura media ($^{\circ}\text{C}$) en un diagrama bioclimático.

Ts: Temperatura suelo ($^{\circ}\text{C}$) en un diagrama bioclimático.

T₁: Temperatura del pico EXO 1 ($^{\circ}\text{C}$) en una experiencia de DSC.

T₂: Temperatura del pico EXO 2 ($^{\circ}\text{C}$) en una experiencia de DSC.

T₅₀: Temperatura a la que se ha liberado el 50 % de la energía asociada a la combustión de la materia orgánica ($^{\circ}\text{C}$) en una experiencia de DSC.

U

UE: Unión Europea.

USC: Universidade de Santiago de Compostela.

USDA: United States Department of Agriculture.

V

v: Velocidad de aumento de las células.

v_i : Velocidades de reacción.

v_{max} : Velocidad máxima de la reacción o velocidad que se alcanzaría cuando todo el enzima disponible se encuentra unido al sustrato.

Símbolos

Δm : Pérdida de masa en una experiencia de TG.

ΔY_1 : Pérdida de masa asociada al primer pico registrado en la curva DTG.

ΔY_2 : Pérdida de masa asociada al segundo pico registrado en la curva DTG.

ΔY_{TOTAL} : Pérdida de masa total calculada entre 200 y 750 °C en la curva DTG.

μ : constante de crecimiento microbiano (h^{-1}).

Anexos.



Barques prises dans les jacinthes d'eau sur le Nil, Égypte (29° 43' N - 31° 15' E).
Yann Arthus-Bertrand.

Anexo I.

CMO (contenido en materia orgánica, %), **NPM** (número más probable de microorganismos, 10^6), **Hs** (humedad del suelo, %) y **Ts** (temperatura suelo, °C).

Clasificación del pH:

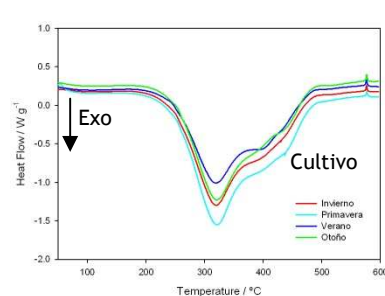
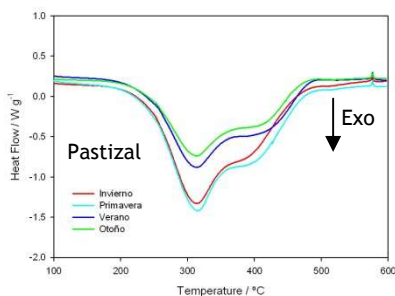
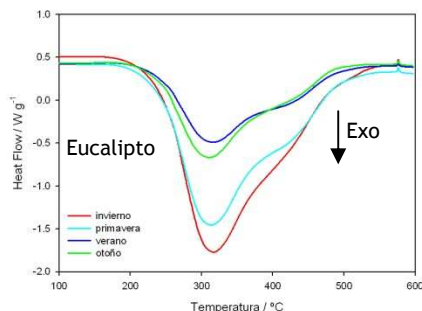
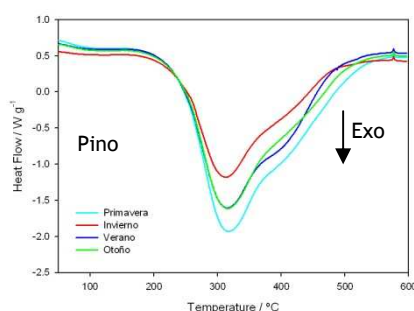
- **pH<4.5** extremadamente ácido (EA): condiciones muy desfavorables.
- **4.5<pH<5.0** fuertemente ácido (FA): posible toxicidad del Al^{+3} .
- **5.1<pH<5.5** ácido (A): exceso Co, Cu, Fe, Mn y Zn y deficiencia de Ca, K, N, Mg, Mo, P y S. Suelos sin carbonato cálcico, actividad bacteriana escasa. El hormigón ordinario es atacado.
- **5.6<pH<6.0** medianamente ácido (MA): adecuado para la mayoría de los cultivos.

Tipo suelo	Estación	pH	Hs (%)	Ts (°C)	CMO (%)	NPM ($\times 10^6$)
Pastizal	Primavera	5.0 FA	23.98	16.5	9.50	16
	Verano	4.8 FA	7.87	21.1	7.90	2.8
	Otoño	4.7 FA	28.82	13.6	7.00	16
	Invierno	5.2 A	39.10	8.2	11.80	16
Cultivo	Primavera	5.5 A	31.63	17.4	7.8 0	11
	Verano	5.8 MA	17.26	18.5	8.60	17
	Otoño	5.6 MA	30.15	13.2	7.90	22
	Invierno	5.9 MA	31.30	7.7	8.00	54
Eucaliptal	Primavera	4.3 EA	34.62	14.9	10.30	0.92
	Verano	4.4 EA	14.36	18.2	8.10	1.3
	Otoño	4.4 EA	25.50	14.0	6.80	1.6
	Invierno	3.8 EA	40.10	8.9	10.80	3.5
Pinar	Primavera	4.5 FA	31.40	13.9	12.60	7.9
	Verano	4.5 FA	20.42	19.5	13.00	4.6
	Otoño	4.3 EA	30.92	13.8	11.00	5.4
	Invierno	4.7 FA	28.60	7.8	7.20	5.4

Anexo II.

Datos DSC, contenido en materia orgánica (CMO) y termogramas DSC.

PASTIZAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.5±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	1.8±0.1
T_{ign} (°C)	239±1.0	237±1.0	236±1.0	243±3.0
T_1 (°C)	317±1.0	316±1.0	313±1.0	314±1.0
T_2 (°C)	402±8.0	408±7.0	406±5.0	392±4.0
T_{end} (°C)	515±5.0	508±5.0	495±5.0	500±2.0
T_{50} (°C)	337±3.0	339±2.0	336±3.0	333±3.0
CMO (%)	9.50	7.90	7.00	11.80
CULTIVO	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.3±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
T_{ign} (°C)	247±1.0	244±1.0	247±1.0	244±1.0
T_1 (°C)	320±1.0	321±1.0	321±1.0	319±1.0
T_2 (°C)	400±5.0	397±8.0	408±8.0	405±5.0
T_{end} (°C)	504±5.0	510±4.0	500±6.0	500±4.0
T_{50} (°C)	341±1.0	340±2.0	341±2.0	340±1.0
CMO (%)	7.80	8.60	7.90	8.00
EUCALIPTAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.4±0.3	1.2±0.4	0.9±0.1	2.0±0.1
T_{ign} (°C)	239±2.0	235±2.0	235±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	314±1.0	318±2.0	311±2.0	317±2.0
T_2 (°C)	421±1.0	407±10.0	---	418±2.0
T_{end} (°C)	511±12.0	527±9.0	536±6.0	533±5.0
T_{50} (°C)	337±3.0	345±4.0	332±2.0	344±1.0
CMO (%)	10.30	8.10	6.80	10.80
PINAR	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	2.1±0.2	2.0±0.1	2.0±0.2	1.4±0.1
T_{ign} (°C)	239±3.0	238±1.0	239±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	316±2.0	316±2.0	317±2.0	311±2.0
T_2 (°C)	425±7.0	405±5.0	410±5.0	409±4.0
T_{end} (°C)	550±5.0	560±4.0	565±6.0	560±5.0
T_{50} (°C)	334±2.0	345±2.0	342±2.0	343±2.0
CMO (%)	12.60	13.00	11.00	7.20



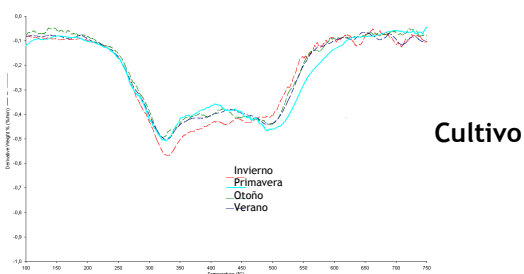
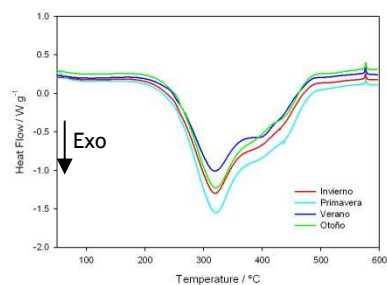
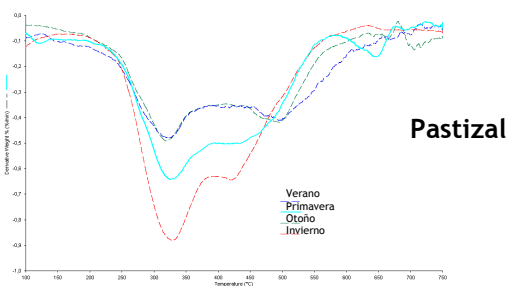
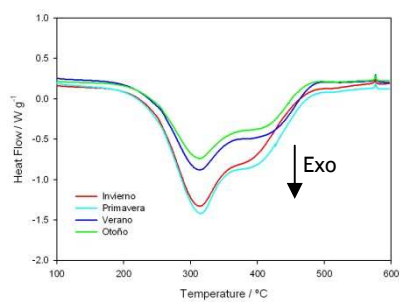
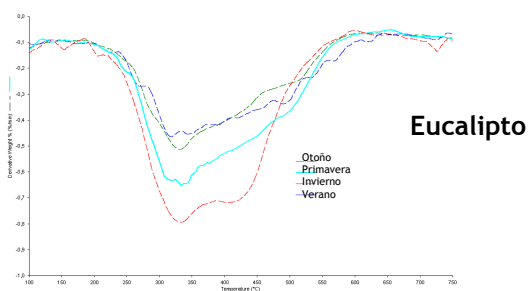
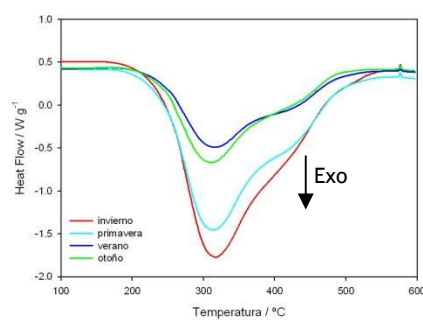
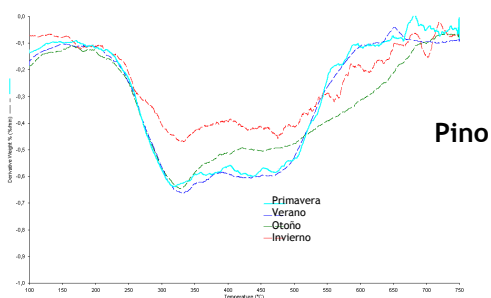
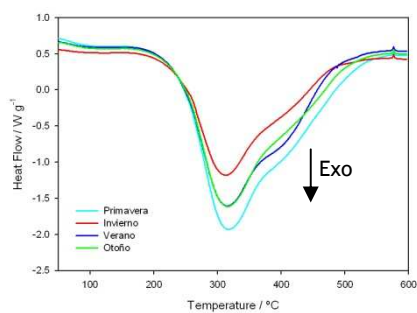
Anexo III.

Datos DSC y número más probable de microorganismos.

PASTIZAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.5±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	1.8±0.1
T_{ign} (°C)	239±1.0	237±1.0	236±1.0	243±3.0
T_1 (°C)	317±1.0	316±1.0	313±1.0	314±1.0
T_2 (°C)	402±8.0	408±7.0	406±5.0	392±4.0
T_{end} (°C)	515±5.0	508±5.0	495±5.0	500±2.0
T_{50} (°C)	337±3.0	339±2.0	336±3.0	333±3.0
NPM (10 ⁶)	16.0	2.8	16.0	16.0
CULTIVO	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.3±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
T_{ign} (°C)	247±1.0	244±1.0	247±1.0	244±1.0
T_1 (°C)	320±1.0	321±1.0	321±1.0	319±1.0
T_2 (°C)	400±5.0	397±8.0	408±8.0	405±5.0
T_{end} (°C)	504±5.0	510±4.0	500±6.0	500±4.0
T_{50} (°C)	341±1.0	340±2.0	341±2.0	340±1.0
NPM (10 ⁶)	11.0	17.0	22.0	54.0
EUCALIPTAL	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	1.4±0.3	1.2±0.4	0.9±0.1	2.0±0.1
T_{ign} (°C)	239±2.0	235±2.0	235±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	314±1.0	318±2.0	311±2.0	317±2.0
T_2 (°C)	421±1.0	407±10.0	---	418±2.0
T_{end} (°C)	511±12.0	527±9.0	536±6.0	533±5.0
T_{50} (°C)	337±3.0	345±4.0	332±2.0	344±1.0
NPM (10 ⁶)	0.92	1.3	1.6	3.5
PINAR	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Q_{DSC} (kJ g ⁻¹)	2.1±0.2	2.0±0.1	2.0±0.2	1.4±0.1
T_{ign} (°C)	239±3.0	238±1.0	239±1.0	239±1.0
T_1 (°C)	316±2.0	316±2.0	317±2.0	311±2.0
T_2 (°C)	425±7.0	405±5.0	410±5.0	409±4.0
T_{end} (°C)	550±5.0	560±4.0	565±6.0	560±5.0
T_{50} (°C)	334±2.0	345±2.0	342±2.0	343±2.0
NPM (10 ⁶)	7.9	4.6	5.4	5.4

Anexo IV.

Termogramas DSC y curvas DTG.



Anexo V.

Datos de Q_{DSC} y datos Q_{total} (kJ kg^{-1}) y $Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1}) del TAM.

	Variables	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Pastizal	Q_{total} (kJ kg^{-1})	5.3503±0.1755 (3.2795 %)	10.5556±0.1717 (1.6271 %)	8.3845±0.2562 (3.0552 %)	5.2513±0.0781 (1.4866 %)
	$Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1})	0.8427±0.0303 (3.5948 %)	3.8625±0.0871 (2.2540 %)	4.5341±0.1764 (3.8904 %)	1.9973±0.0071 (0.3572 %)
	Q_{DSC} (kJ g^{-1})	1.5±0.1	1.0±0.1	1.0±0.2	1.8±0.1
Cultivo	Q_{total} (kJ kg^{-1})	3.3098±0.0184 (0.5566 %)	3.2789±0.0718 (2.1891 %)	3.7917±0.0531 (1.4003 %)	3.3468±0.0794 (2.3727 %)
	$Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1})	2.0986±0.0830 (3.9564 %)	2.2117±0.0556 (2.5132 %)	1.8047±0.0436 (2.4152 %)	1.7020±0.0299 (1.7563 %)
	Q_{DSC} (kJ g^{-1})	1.3±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	1.2±0.1
Eucaliptal	Q_{total} (kJ kg^{-1})	4.8991±0.1035 (2.1130 %)	19.0173±0.3639 (1.9133 %)	4.0826±0.1244 (3.0469 %)	4.7948±0.1999 (4.1691 %)
	$Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1})	2.7011±0.0943 (3.4901 %)	7.5744±0.3653 (4.8231 %)	2.4168±0.0782 (3.2358 %)	1.5761±0.0587 (3.7262 %)
	Q_{DSC} (kJ g^{-1})	1.4±0.3	1.2±0.4	0.9±0.1	2.0±0.1
Pinar	Q_{total} (kJ kg^{-1})	14.3733±0.6203 (4.3155 %)	11.7052±0.5538 (4.7309 %)	11.5324±0.4258 (3.692 %)	9.6844±0.3505 (3.6194 %)
	$Q_{parcial}$ (kJ kg^{-1})	7.7257±0.2181 (2.8229 %)	7.5888±0.3633 (4.7872 %)	7.3560±0.2981 (4.0521 %)	5.1116±0.1133 (2.2173 %)
	Q_{DSC} (kJ g^{-1})	2.1±0.2	2.0±0.1	2.0±0.2	1.4±0.1

Índice de tablas.

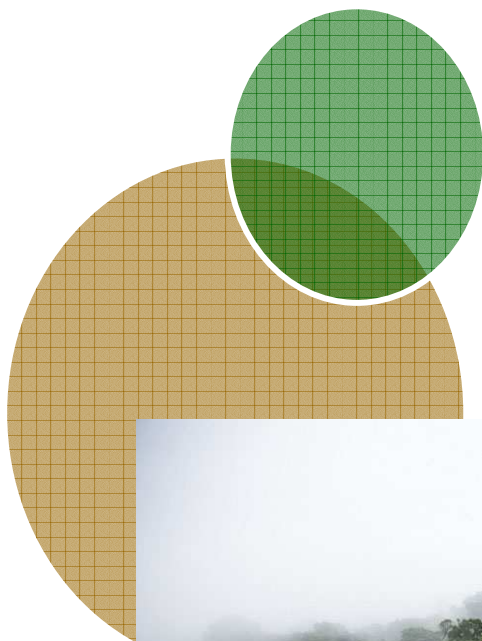


Champs de tulipes à proximité de Lisse, région d'Amsterdam, Pays-Bas (52° 15' N - 4° 37').
Yann Arthus-Bertrand.

Índice de tablas.

Tabla 1.	Reconstrucción de las transiciones más características observables mediante DSC	18
Tabla 2.	Principales parámetros climáticos de la zona de muestreo	51
Tabla 3.	Composición del medio base de cultivo usado para la determinación del NPM	64
Tabla 4.	Parámetros de interés: pH, humedad, temperatura y pendiente	94
Tabla 5.	Descripción granulométrica	97
Tabla 6a.	Propiedades de constitución, físicas y dinámicas (I)	98
Tabla 6b.	Propiedades de constitución, físicas y dinámicas (II)	100
Tabla 7.	Principales emisiones del complejo industrial Alúmina- Aluminio	102
Tabla 8.	Principales emisiones de la Central Térmica de As Pontes- ENDESA	102
Tabla 9.	Composición elemental de los diferentes suelos	103
Tabla 10.	Relación C/S	104
Tabla 11.	Relación C/N	105
Tabla 12.	Clasificación de los suelos según su contenido en materia orgánica	106
Tabla 13.	Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: K, Ca, Ti, Fe, Al, Si	107
Tabla 14.	Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: P, S, Cl, V, Cr, Ba	110
Tabla 15.	Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: As, Se, Br, Rb, Sr, Y	112
Tabla 16.	Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: Zr, Nb, Pb, Th	113
Tabla 17.	Composición orientativa obtenida mediante fluorescencia de Rayos X: Mg, Mn, Ni, Cu, Zn, Ga	114
Tabla 18.	Número más probable de microorganismos (NPM) para los cuatro suelos estudiados a lo largo del año	117
Tabla 19.	Resultados obtenidos en las experiencias de DSC	121
Tabla 20.	Resultados obtenidos en las experiencias TAM	129

Índice de figuras.



Ebène rose sur la montagne de Kaw, Guyane (4° 30'N - 52° 00'O).
Yann Arthus-Bertrand.

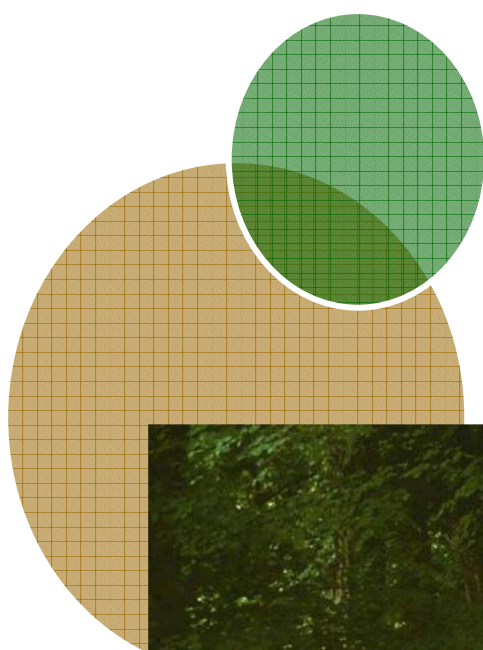
Índice de figuras.

Figura a.	Algunos usos del suelo	3
Figura b.	El ser humano es responsable directo de la mayor parte de los procesos que abocan a una pérdida de superficie fértil en el planeta	4
Figura 1.	En la productividad y sostenibilidad de los suelos se deben tener en cuenta multitud de parámetros físicos, químicos, biológicos y ambientales	13
Figura 2.	La actividad biológica del suelo depende de multitud de parámetros	15
Figura 3.	Calorímetro de hielo de Lavoisier-Laplace	16
Figura 4.	A través de termogramas como éste, se puede realizar un seguimiento del comportamiento de la población microbiana de un suelo en función de la potencia térmica generada por unidad de tiempo	17
Figura 5.	Simulación de un Termograma de DSC en donde se pueden observar diferentes tipos de transiciones y fenómenos típicos	19
Figura 6.	Esquema de los principales procesos en los que se producen cambios de masa detectables en termogravimetría	20
Figura 7.	Curvas DTG obtenidas para un suelo de cultivo a lo largo de diferentes estaciones del año	22
Figura 8.	Constituyentes principales del suelo	22
Figura 9.	Organismos del suelo clasificados según su tamaño: microfauna, mesofauna y macrofauna	23
Figura 10.	Principales grupos de organismos presentes en el suelo	24
Figura 11.	Gráfica que representa un crecimiento bacteriano experimental tipo con sus diferentes fases: latencia, exponencial, estacionaria y muerte	30
Figura 12.	Gráfica en la que se muestra la evolución de energía de una reacción exergónica	33
Figura 13.	En 1913 Leonor Michaelis y Maud Menten desarrollaron una teoría y propusieron una ecuación de velocidad que explica el comportamiento cinético de los enzimas	34
Figura 14.	Representación de la velocidad de reacción frente a la concentración de sustrato	36
Figura 15.	Localización de la zona de estudio	47
Figura 16.	Gramíneas	48
Figura 17.	Leguminosas	49
Figura 18.	Los cuatro suelos muestreados están sometidos a diferentes procesos de	

	explotación	50
Figura 19.	Vista general de la estación meteorológica de Borreiros	52
Figura 20.	Materiales básicos utilizados en la fase de trabajo de campo	55
Figura 21.	Equipos utilizados en la fase de laboratorio	56
Figura 22.	Determinación del pH de uno de los suelos	57
Figura 23.	Determinación de la capacidad de campo	57
Figura 24.	Hidrómetro de Boyoucos	58
Figura 25.	El triángulo textural se utiliza para clasificar los suelos en función de la proporción de sus diferentes clases texturales	59
Figura 26.	Balanza científica METLER XS104 con kit para la determinación de densidades	59
Figura 27.	Cilindro metálico utilizado para determinar la densidad aparente	60
Figura 28.	Montaje para determinar la conductividad hidráulica	61
Figura 29.	Cuchara de Casagrande automática y centrífuga MEDITRONIC de SELECTA .	61
Figura 30.	Realización del test Proctor	62
Figura 31.	Estufa de cultivo SELECTA Incubing	63
Figura 32.	Autoclave SELECTA AUTESTER-E 140 DRY	63
Figura 33.	Diferentes hornos de mufla y balanza SALTER AND EP22KA	64
Figura 34.	Microcalorímetro TAM 2277 (Thermal Activity Monitor) deThermometric ..	65
Figura 35.	Detalle del TAM que muestra sus diferentes partes	66
Figura 36.	Esquema del baño del TAM y los diferentes sistemas de control para el mantenimiento de la estabilidad de la temperatura del mismo	67
Figura 37.	Baño termostatado SELECTA Frigiterm	67
Figura 38.	Detalles del soporte de las ampollas	68
Figura 39.	Detalle de la disposición de los elementos Peltier	68
Figura 40.	Microcalorímetro TAM2277 y equipo complementario: SAI, baño termostatado, ordenador y estufa de cultivo	69
Figura 41.	Principio de balance nulo de temperatura	72
Figura 42.	Diagrama esquemático del calorímetro de potencia compensada	73
Figura 43.	Diagrama esquemático del calorímetro de flujo de calor	73
Figura 44.	Detalles del DSC-2910 TA-Instruments	74
Figura 45.	Esquema básico del DSC de flujo de calor	75
Figura 46.	Curva DSC	75
Figura 47.	Pico endotérmico correspondiente a la fusión del indio	76
Figura 48.	Termograma para un suelo forestal obtenido en un DSC en el que se pueden observar sus tres picos característicos	78
Figura 49.	Foto TG	80
Figura 50.	Curva típica de un proceso de termodegradación	81

Figura 51.	Principales tipos de curvas termogravimétricas	82
Figura 52.	Curvas TG y DTG para una muestra de cultivo durante el invierno	84
Figura 53.	Perfil de la costa cantábrica gallega entre Estaca de Bares y Ribadeo	91
Figura 54.	Diagrama bioclimático de la zona de muestreo	93
Figura 55.	Evolución de la asimilabilidad de los distintos elementos nutritivos presentes en el suelo según el pH del mismo y la adaptación de las especies vegetales a las diferentes condiciones	95
Figura 56.	Localización de Alúmina- Aluminio y central térmica de As Pontes	101
Figura 57.	Evolución del NPM a lo largo del año en los diferentes suelos estudiados ...	119
Figura 58.	Termogramas de los suelos obtenidos mediante DSC para las cuatro estaciones del año	120
Figura 59.	Cálculo gráfico de la T_{50} para el suelo de pastizal en primavera	122
Figura 60.	Comparaciones de los termogramas DSC y DTG para los 4 suelos durante la primavera	123
Figura 61.	Curvas DTG de los diferentes tipos de suelos para las cuatro estaciones del año	125
Figura 62.	Diagramas de barras representando los valores de pérdida de masa	126
Figura 63.	Diagramas de barras representando los valores de pérdida de masa y la ratio $\Delta Y_2/\Delta Y_1$	127
Figura 64.	Correlaciones entre el calor de combustión por gramo de suelo (DSC) y la pérdida de masa durante la combustión (TG)	128
Figura 65.	Calor de combustión por gramo de suelo frente a la pérdida total de masa medida por TG	128
Figura 66.	Termogramas TAM comparativos de los cuatro tipos de suelos por estación	132
Figura 67.	Termogramas TAM comparativos para cada uno de los tipos de suelo por estaciones	132

**Artículos internacionales publicados por la
autora.**



Calculation of forest biomass indices as a tool to fight forest fires

L. Núñez-Regueira^{*}, J.A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras,
O. Núñez-Fernández

Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied Physics, Faculty of Physics, Universidade de Santiago de Compostela (USC), 15706 Santiago de Compostela, Spain

Received 31 January 2001; received in revised form 27 April 2001; accepted 27 April 2001

Abstract

Wildfires are mainly responsible for economical and ecological disasters both in forests and forest resources all over the world. In this article, we report a method which allows the calculation of risk indices to be used in campaigns designed for preventing and/or fighting forest fires. The method is based on the determination of calorific values using a static bomb calorimeter in oxygen atmosphere following the procedure given by Hubbard et al. [in: F.D. Rossini (Ed.), *Experimental Thermochemistry*, Interscience Publishers, New York, 1956, p. 5] and flammabilities using the method proposed by Valette [Documentos del seminario sobre métodos y equipos para la prevención de incendios forestales, ICONA, Madrid, 1988]. A combined study of thermochemical data and bioclimatic parameters allowed the calculation of risk indices for the different species making up the forest vegetation of a zone situated in the coast of Galicia (NW Spain). These risk indices can be presented in the form of maps and, thus, be used to prevent and/or fight forest fires. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Forest fires; Calorific values; Flammability; Bioclimatic diagram; Xyloenergy; Risk index

1. Introduction

Approximately 550,000 ha [1] of the coast of Galicia (NW Spain) are occupied by different forest species. The more abundant species, *Eucalyptus* (90,000 ha) and conifers (250,000 ha) are used mainly for production of wood pulp. The remaining forest biomass of the zone is composed of different bush species (190,000 ha) and hardwood species (20,000 ha).

In the last 25 years, the forest occupied surface of the zone was reduced by around 300,000 ha due to a

huge number of forest fires which devastated total or partially different parts of the area. Approximately 95% of these forest fires were directly caused by accidental or deliberately performed anthropic activities. Because of these fires, the Atlantic coast of Galicia is suffering a desertification process.

This situation is common all over the world and for this reason, preventing and fighting forest fires became a main task. Calculation of risk indices of the different species which make up the woodland map of a given zone plays an important role in these kind of strategies [2,3]. In the present study, the risk indices of the different species which make up the woodland map of the coast of Galicia were calculated. The knowledge of risk indices; i.e. the energetic state of the forest species gives information about the possibility of these

^{*} Corresponding author. Tel.: +34-9-81524350;
fax: +34-9-81524350.
E-mail address: falisar1@uscmail.usc.es (L. Núñez-Regueira).

species to start and spread forest fires. A combined study of risk indices and forest inventories of the zone lead to the design of risk index maps to be used to prevent and/or to fight forest wildfires.

The method followed in this study can be extended all over the world providing the knowledge of the forest species fuel load, and bioclimatic parameters over the year of the different regions [4].

Calculation of risk index needs the knowledge of different factors; such as calorific values, flammability, physico-chemical parameters, bioclimatic parameters, and biological parameters characteristic of every species.

- Calorific value, i.e. the amount of energy released by each unit of combustible mass. Two calorific values must be differentiated. The higher heating value (HHV) is the amount of energy released by complete combustion of a mass unit of sample at constant volume in an oxygen atmosphere assuming that the final products of combustion consist of O_2 , CO_2 , SO_2 , and N_2 in gas phase together with water that contained in the sample and that generated from the combined hydrogen, in liquid form. This calorific value can be determined experimentally in the laboratory and because of that is one of the two main parameters used for calculation of risk indices. For a given forest species, this value depends on the zone and season. The lower heating value (LHV) can be calculated assuming that the water in the products remains in the form of vapor. The knowledge of LHV gives a realistic idea about the magnitude of a fire and becomes an index to quantify both the spread to neighboring surfaces and the virulence of forest fires. Also, the knowledge of LHV is very helpful to evaluate forest resources and to choose the best moment for their rational energetic exploitation.

Both calorific values are related through the equation

$$LHV_d = HHV_d - 24.42(9H_d)$$

where LHV_d ($kJ\ kg^{-1}$) corresponds to the lower calorific value of the dry sample, HHV_d ($kJ\ kg^{-1}$) the higher calorific value of the dry sample, and H_d is the hydrogen percentage of the dry sample. The heat of vaporization of water is taken as $2441.8\ kJ\ kg^{-1}$, and the mass of water formed

during combustion is nine times the hydrogen content.

Fireline intensity can be calculated using the following equation [5,6]:

$$I = (LHV)Wv$$

where I ($kW\ m^{-1}$) is the fireline intensity, i.e. the product of the available heat of combustion per unit area of ground and the rate of spread of the fire, W ($kg\ m^{-2}$) the fuel loading, i.e. the oven dry weight of fuel per unit area, and v ($m\ s^{-1}$) is the rate of spread.

- Flammability, i.e. the resistance of a given species to catch and spread fire. It depends on the nature of the fuel and the moisture level, both of the material and of the ambience. It is a key factor when planning fire extinction strategies.
- Physico-chemical parameters, such as moisture, density, ash percentage after bomb combustion, elementary chemical composition, heavy metal contents, etc.
- Bioclimatic parameters, such as environmental temperature, pluviosity, hydric availability, evapotranspiration, etc.
- Different species own biological parameters, such as blooming period, resin and/or essential oils content, age, etc.

The different parameters were measured using, a static bomb calorimeter (HHV), a standard epiradiator (flammability), a Carlo Erba elementary analyzer (elementary composition), and a Perkin-Elmer atomic absorption spectrophotometer (heavy metals).

2. Experimental

For all the species studied, the samples were collected from a previously chosen 1 ha of forest. The plot was divided into $1\ m^2$ sites, five of which were randomly chosen. From every site, bulk samples consisting of branches having diameters not greater than 6 cm, bark, leaves, fallen fruits, etc. originated from pruning, cuts of trees, and, in general, forestry works were collected. All bulk samples from the five sites were reduced by a coning and quartering procedure to a representative sample of about 1 kg. This sample corresponds to residues abandoned in the forest.

Living parts of the different forest species were also collected. In the case of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Pinus pinaster* Aiton, one standard representative tree corresponding to each species formation in the zone was chosen and then cut down. From this tree, samples consisting of fruits, leaves, long branches having a diameter greater or equal than 6 cm, and branches having a diameter not greater than 6 cm were collected. After grinding, the samples were mixed and then reduced by a coning and quartering procedure to a final representative sample of about 1 kg. Living parts were used for infrared analyses, while residue samples were used for energetic evaluation.

Once collected, the samples were stored in hermetically closed polyethylene bags in order to minimize loss of moisture which is a key parameter to determine calorific values.

Part of the sample was used for flammability experiments, following the procedure proposed by Valette [7], using a standard epiradiator of 500 W constant nominal power (UNE-23-721). Flammability values are average of 75 measurements performed on samples of same species.

The remaining sample was dried in a natural convection Selecta 200210 stove for 12 h at 105°C.

Moisture was determined as the weight loss after the drying process, the material was weighed to 0.1 or 1.0 g using a double-scaled Salter EP-22KA balance.

After drying, the sample was ground using two mills, a Retsch SM-1 and a Taunus MS-50, in order to homogenize the sample as much as possible before pressing the pellets to be used in the calorimetric experiments. A first part of this ground sample was used to determine density and average chemical composition of each of the species being studied. Elementary composition (C, H, O, N, and S) was determined using a Carlo Erba analysis equipment. Heavy metals (Cd, Cu, Zn, Pb, Mn, and Cl) were determined by a Perkin-Elmer atomic absorption spectrophotometer. A second fraction of the ground sample was used to determine calorific values and ash percentages after combustion of the different species.

Calorimetric experiments were performed according to the procedure described by Hubbard et al. [8]. Sample pellets of about 1 g size [9] were situated in a stainless steel crucible introduced into a Parr-1108 sealed static bomb calorimeter made of a special stabilized stainless steel. This material can successfully resist the attack of the acids originated during the

Table 1
Main characteristics [4] of the coast of Galicia

Altitude (m)	0–300
Annual rainfall index (mm)	1100–1427
Summer rainfall index (mm)	550–141
Mean annual temperature (°C)	13–14.2
Mean daily maximum temperature of the warmest month (July) (°C)	28–32
Hydric deficiency (mm)	130–174
Mediterranean index	1.93–2.24
Representative species [1] of the zone	
North coast	
Conifers	<i>P. pinaster</i> Aiton, <i>P. sylvestris</i> L. and <i>P. radiata</i> D.
Principal hardwoods	<i>Q. robur</i> L. and <i>E. globulus</i> Labill.
Other hardwoods	<i>A. pseudoplatanus</i> L., <i>C. sativa</i> Miller, <i>A. glutinosa</i> (L.) Gaertner, <i>B. pendula</i> Roth, <i>S. atrocinera</i> L., and <i>L. nobilis</i> L.
Bushes	Heath <i>U. europaeus</i> L., <i>R. fruticosus</i> L., <i>P. aquilinum</i> L. and <i>S. scoparius</i> Link.
South coast	
Conifers	<i>P. pinaster</i> Aiton, <i>P. sylvestris</i> L. and <i>P. radiata</i> D.
Principal hardwoods	<i>Q. robur</i> L. and <i>E. globulus</i> Labill.
Other hardwoods	<i>A. pseudoplatanus</i> L., <i>A. glutinosa</i> (L.) Gaertner, <i>B. pendula</i> Roth, <i>S. atrocinera</i> L., and <i>F. Excelsior</i> L.
Bushes	Heath, <i>U. europaeus</i> L., <i>R. fruticosus</i> L., <i>P. aquilinum</i> L. and <i>S. scoparius</i> Link.

combustion reactions taking place in the bomb. The solid samples, in pellet form, were ignited at (298.150 ± 0.001) K in oxygen 99.9995% pure at 3.04 MPa with 1 ml of water added to the bomb. The electrical energy for ignition was determined from the change in potential difference across a 2900 μ F capacitor when discharged from 40 V through the platinum ignition wire. Samples, different wires, cotton thread, and crucible were weighed using a Sartorius R200D balance (sensitivity 0.01 mg). The calorimeter was placed in an isothermal-jacket with an air-gap separation of 10 mm between all surfaces. Water was added to the calorimeter from a weighed glass vessel, and for each experiment a correction to the energy equivalent was made for the deviation of the mass of water added from 4631 g weighed to 0.1 g. Temperature of this calorimeter water was measured to 10^{-4} K at intervals of 15 s using a stable and sensitive platinum resistance thermometer (ASL S 391/100), and recorded by a resistance bridge (ASL F-26) connected to a computer (Amstrad PC 2086/30). The water in the jacket was circulated by stirring and its temperature was maintained at 298.15 K by a temperature controller (TRONAC PTC-41) with a precision of 0.003°C over a week.

Calorific values shown in different tables are average of four experiments carried out using each forest species samples.

The energy equivalent of the calorimeter was determined from the combustion of benzoic acid (BCS CRN-ISOP standard reference sample) from the Bureau of Analyzed Samples Ltd., having a specific energy of combustion under standard bomb conditions of $26431.8 \pm 3.7 \text{ J g}^{-1}$. From five calibrations done with the bomb, the energy equivalent of the calorimeter was determined to be $E_{\text{calor}} = 22402.5 \pm 1.9 \text{ J K}^{-1}$ (0.0085%) where the uncertainty quoted is the standard deviation of the mean.

The rise in temperature was corrected for stirring and exchange heating.

3. Results and discussion

The main bioclimatic characteristics of the coast of Galicia, as well as the representative forest species existing in the zone are shown in Table 1. For a better comprehension, due to bioclimatic differences, the

coast zone was divided in two parts: north and south coast. All the data reported in Table 1 are represented in the form of the bioclimatic diagram [10] shown in Fig. 1, where 7.5°C is the temperature below which no stable vegetative production is possible.

Chemical analysis of the samples of this study are listed in Table 2. In this table, elementary analysis (C, H, O, N, S, and Cl) important for HHV calculation, and heavy metals content (Cu, Cd, Zn, Pb, and Mn) are reported. High contents in Mn, compared to the other elements studied are observed. Highest Mn contents

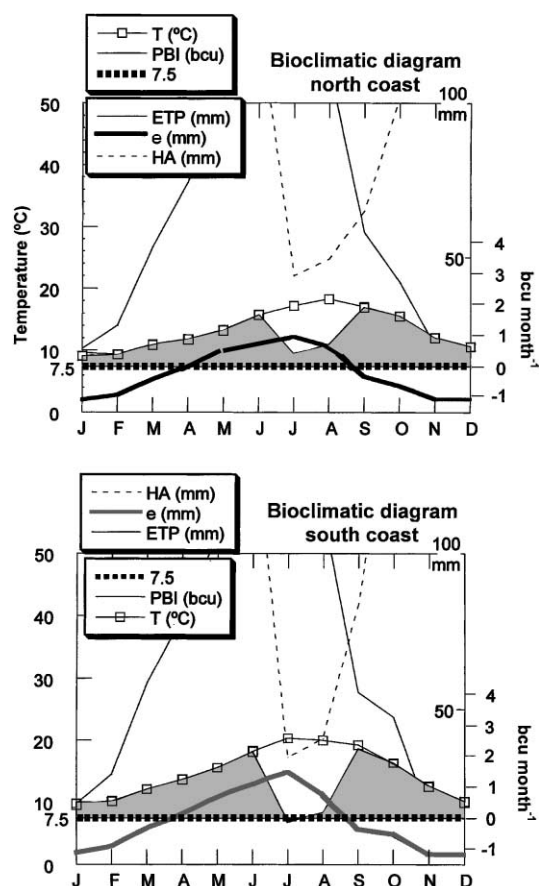


Fig. 1. Bioclimatic diagrams showing the main environmental characteristics of the two coast zones of Galicia (NW Spain): T (temperature in $^\circ\text{C}$), ETP (evapotranspiration in mm), e (residual evapotranspiration in mm), HA (hydric availability in mm), and PBI (potential bioclimatic intensity in bcu). Shaded areas correspond to vegetative production periods ($1 \text{ bcu} = 5^\circ\text{C} \times 1 \text{ month}$).

Table 2
Chemical analysis and volatile metals [15–18]

	Chemical analysis (percentage of total composition)						Volatile metals (ppm)				
	N	C	H	O	S	Cl	Cu	Cd	Zn	Pb	Mn
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.											
Spring	2.66	45.45	13.04	38.70	0.15	–	13.12	1.13	28.15	1.01	891.32
Summer	1.77	45.00	5.99	46.93	0.23	0.08	18.13	1.65	39.00	1.65	2044.50
Autumn	1.95	47.92	12.42	37.61	0.10	–	17.12	1.10	41.80	4.10	160.30
Winter	2.01	46.96	5.97	44.88	0.18	–	7.82	1.06	24.37	7.20	90.00
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertner											
Spring	2.07	51.65	6.59	39.62	<0.01	0.06	15.75	1.97	111.24	29.53	63.98
Summer	3.10	50.98	6.77	39.09	<0.01	0.06	17.90	0.99	84.55	6.96	13.93
Autumn	1.22	50.92	6.80	41.00	<0.01	0.05	9.77	<0.01	45.92	8.79	6.84
Winter	1.48	50.25	6.22	41.99	<0.01	0.05	14.19	2.03	95.39	19.26	49.67
<i>Betula pendula</i> Roth.											
Spring	1.21	56.64	6.77	35.33	<0.01	0.05	14.11	2.02	109.86	21.17	36.28
Summer	1.99	51.54	6.71	39.71	<0.01	0.04	11.50	2.87	158.18	1.92	103.53
Autumn	0.81	47.59	6.31	45.25	0.01	0.03	9.36	<0.01	37.46	10.41	4.16
Winter	0.68	46.92	6.02	46.32	<0.01	0.04	39.12	1.86	149.95	18.63	37.25
<i>Castanea sativa</i> Miller											
Spring	0.86	45.60	5.84	47.49	0.16	0.05	8.03	3.20	35.33	2.10	63.70
Summer	1.98	45.71	5.89	45.97	0.26	0.19	160.72	1.96	25.50	3.92	4704.00
Autumn	2.53	47.16	5.96	44.24	0.11	–	9.31	1.35	30.21	3.21	1931.10
Winter	2.26	48.28	7.08	42.29	0.10	–	4.70	–	18.32	1.40	2212.31
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.											
Spring	2.11	46.65	12.42	38.68	0.13	0.08	46.31	2.38	12.35	1.12	795.12
Summer	2.25	50.13	6.54	40.46	0.10	0.52	52.34	1.94	19.40	6.78	6390.00
Autumn	1.90	44.64	5.71	47.46	0.22	0.07	6.13	2.30	17.48	1.86	83.12
Winter	1.65	48.10	7.31	42.83	0.06	0.05	4.32	2.88	11.53	0.90	92.24
<i>Fraxinus excelsior</i> L.											
Spring	2.15	46.93	6.35	44.51	<0.01	0.05	20.66	1.97	122.99	13.77	5.90
Summer	2.45	47.18	6.26	44.07	<0.01	0.05	8.87	1.97	26.63	5.92	2.96
Autumn	1.42	47.18	6.09	45.25	<0.01	0.04	12.03	<0.01	24.05	1.01	22.05
Winter	1.16	46.67	6.44	45.66	<0.01	0.05	14.79	0.98	93.67	3.94	4.93
Heath											
Spring	1.63	53.26	6.23	38.71	0.12	0.05	31.00	<1.00	42.00	6.00	130.00
Summer	1.41	53.23	6.52	38.74	0.07	0.03	23.00	<1.00	17.00	13.00	172.00
Autumn	1.00	53.74	6.38	38.75	0.10	0.03	51.00	<1.00	117.00	20.00	59.00
Winter	1.68	55.51	7.06	35.64	0.08	0.03	14.00	<1.00	28.00	4.00	138.00
<i>Laurus nobilis</i> L.											
Spring	2.14	49.99	6.52	41.31	<0.01	0.03	21.11	1.92	86.36	24.95	32.63
Summer	2.04	50.76	6.51	41.11	<0.01	0.03	15.67	2.94	88.16	<1.00	1.96
Autumn	1.52	46.19	6.35	45.91	<0.01	0.03	258.69	<0.01	21.32	6.49	70.46
Winter	2.04	48.82	6.64	42.46	0.01	0.03	27.25	2.02	126.17	11.10	34.32
<i>Pinus pinaster</i> Aiton											
Spring	3.02	46.96	6.39	43.41	0.22	–	0.29	1.60	25.60	2.10	1206.30
Summer	1.88	49.74	6.40	41.57	0.15	0.26	36.55	1.00	38.90	1.80	1754.40
Autumn	2.01	50.26	6.01	41.58	0.14	–	13.10	3.21	28.30	1.61	1730.10
Winter	1.86	52.89	6.45	38.69	0.08	0.03	5.71	4.28	18.57	0.90	54.28

Table 2 (Continued)

	Chemical analysis (percentage of total composition)						Volatile metals (ppm)				
	N	C	H	O	S	Cl	Cu	Cd	Zn	Pb	Mn
<i>Pinus radiata</i> D.											
Spring	1.35	49.50	6.19	42.84	0.12	<0.01	20.00	<1.00	59.00	1.00	167.00
Summer	1.47	48.72	6.41	43.33	0.07	<0.01	19.00	<1.00	44.00	9.00	86.00
Autumn	1.26	51.59	6.76	40.30	0.09	<0.01	31.00	<1.00	57.00	11.00	83.00
Winter	1.76	51.45	6.23	40.46	0.10	<0.01	22.00	<1.00	57.00	10.00	129.00
<i>Pinus sylvestris</i> L.											
Spring	1.44	51.55	6.96	39.94	0.11	>0.01	20.00	<1.00	109.00	4.00	86.00
Summer	0.60	50.30	6.40	42.60	0.10	>0.01	14.00	<1.00	104.00	4.00	120.00
Autumn	1.04	50.61	6.34	41.91	0.10	>0.01	27.00	<1.00	75.00	10.00	42.00
Winter	1.65	53.09	6.88	38.30	0.08	>0.01	18.00	<1.00	52.00	8.00	87.00
<i>Pinus aquilinum</i> L.											
Spring	1.41	45.38	5.82	46.81	0.19	0.39	2.57	–	32.85	2.85	41.42
Summer	1.71	45.50	5.97	45.60	0.31	0.91	8.40	1.50	16.90	1.30	1963.10
Autumn	2.58	46.57	5.72	44.77	0.22	0.14	21.70	2.41	41.00	4.83	410.00
Winter	2.27	46.66	5.93	44.49	0.26	0.39	29.72	–	43.60	1.70	2140.00
<i>Quercus robur</i> L.											
Spring	3.05	44.70	11.96	40.14	0.15	8.71	6.50	1.85	18.51	0.60	293.50
Summer	1.82	45.88	6.25	45.66	0.25	0.14	75.05	3.26	21.30	1.63	3100.00
Autumn	1.97	45.87	6.12	45.96	–	0.08	6.30	1.00	18.31	0.40	295.80
Winter	1.16	46.87	7.69	44.10	0.15	0.03	8.42	3.37	16.84	0.80	397.40
<i>Rubus fruticosus</i> L.											
Spring	1.73	47.22	6.13	44.58	0.16	0.18	16.71	1.67	16.71	0.80	10.00
Summer	1.71	45.64	6.05	46.23	0.14	0.23	44.30	1.00	26.30	1.10	1377.90
Autumn	2.97	46.21	5.98	44.53	0.13	0.18	18.00	–	24.00	54.00	1800.00
Winter	2.92	46.82	6.13	43.86	0.12	0.15	12.00	–	36.00	24.00	1840.00
<i>Salix atrocinera</i> L.											
Spring	1.79	50.13	6.37	41.62	<0.01	0.07	17.18	2.02	119.27	40.43	44.47
Summer	1.89	52.00	6.79	39.25	<0.01	0.07	12.76	2.95	95.25	<1.00	62.85
Autumn	1.25	49.89	6.42	42.37	0.01	0.07	27.00	1.93	165.89	7.72	59.78
Winter	0.82	48.42	5.71	44.97	0.01	0.07	20.30	2.53	125.64	31.73	71.07
<i>Sarothamnus scoparius</i> (L.) Link.											
Spring	2.01	50.55	7.04	40.03	0.21	0.16	38.39	1.60	22.30	0.80	199.90
Summer	1.99	48.23	6.58	42.81	0.17	0.22	7.74	1.00	36.90	1.80	2756.70
Autumn	1.01	51.06	6.44	41.30	0.08	0.11	8.57	–	27.14	4.29	1600.00
Winter	4.84	46.20	11.53	37.34	0.09	0.11	4.30	–	44.00	1.43	3714.00
<i>Ulex europaeus</i> L.											
Spring	1.00	49.70	6.88	42.07	0.23	0.12	15.00	3.33	89.28	1.80	60.00
Summer	2.67	48.70	6.71	41.49	0.07	0.36	19.24	1.60	25.60	4.81	1218.00
Autumn	3.06	47.03	6.41	43.35	0.08	0.08	8.08	–	36.40	12.10	1778.50
Winter	2.80	48.96	6.53	41.41	0.12	0.18	32.00	–	42.00	6.00	1920.00

correspond always to the blooming period of the different forest species. This may be understood by the need for this ion in the electron transfer from the water as electron donor to the photosystem II (for the formation of one oxygen molecule, four electrons

must be separated from two water molecules). This process needs the presence of Mn^{2+} and chloride ions [11].

Moisture, density, and bomb ash after combustion are shown in Table 3. These data are very valuable for

Table 3

Mean high heating values (HHV), mean low heating values (LHV), moisture in percentage (*M*), density in kg m⁻³ (*D*), ashes in bomb after combustion in percentage (AB), and flammability (*F*) of the different species over the seasons of the year [15–18]^a

	HHV (kJ kg ⁻¹) (%)	LHV (kJ kg ⁻¹) (%)	<i>M</i>	<i>D</i>	AB	<i>F</i>
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.						
Spring	17795.00 ± 71.15 (0.40)	6363.39 ± 36.07 (0.57)	49.31	890	4.62	3
Summer	17848.87 ± 74.59 (0.42)	5052.88 ± 29.46 (0.58)	60.50	820	2.67	5
Autumn	18436.86 ± 27.10 (0.15)	5498.27 ± 11.86 (0.22)	56.25	810	2.13	4
Winter	17834.93 ± 12.05 (0.07)	8747.26 ± 7.11 (0.08)	41.00	820	1.15	3
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertner						
Spring	21090.77 ± 121.96 (0.58)	6051.73 ± 46.89 (0.77)	61.54	790	0.48	1
Summer	21073.82 ± 90.45 (0.43)	4020.92 ± 26.54 (0.66)	70.66	840	1.44	2
Autumn	20628.67 ± 90.83 (0.44)	5014.57 ± 31.39 (0.63)	65.44	800	0.24	1
Winter	19861.74 ± 74.68 (0.38)	6703.25 ± 32.62 (0.49)	56.32	800	0.24	1
<i>Betula pendula</i> Roth.						
Spring	20755.92 ± 131.31 (0.63)	6863.10 ± 56.32 (0.82)	57.14	770	0.46	1
Summer	21086.13 ± 24.54 (0.12)	6534.09 ± 9.99 (0.15)	59.30	850	0.86	2
Autumn	20522.94 ± 64.04 (0.31)	8668.47 ± 32.97 (0.38)	48.51	840	0.37	2
Winter	19837.35 ± 147.49 (0.74)	7696.54 ± 71.36 (0.93)	51.62	780	0.18	1
<i>Castanea sativa</i> Miller						
Spring	17460.78 ± 58.86 (0.34)	5363.19 ± 24.68 (0.46)	58.08	610	1.58	4
Summer	17436.71 ± 86.35 (0.50)	5458.14 ± 36.71 (0.67)	57.49	590	2.18	5
Autumn	17130.09 ± 85.03 (0.50)	8515.32 ± 51.02 (0.60)	40.00	590	1.71	5
Winter	18667.42 ± 50.63 (0.27)	7334.69 ± 25.31 (0.35)	50.00	600	0.30	4
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.						
Spring	18585.90 ± 61.81 (0.33)	6215.43 ± 29.17 (0.47)	52.80	640	1.37	4
Summer	20760.84 ± 80.64 (0.39)	6743.03 ± 34.03 (0.50)	57.80	620	1.56	4
Autumn	19142.75 ± 81.41 (0.43)	8210.82 ± 42.66 (0.52)	47.60	650	0.28	4
Winter	17539.08 ± 64.72 (0.37)	5510.48 ± 28.01 (0.51)	56.72	660	2.58	3
<i>Fraxinus excelsior</i> L.						
Spring	19303.09 ± 65.97 (0.34)	4705.13 ± 23.17 (0.49)	64.88	790	2.23	2
Summer	18975.23 ± 69.62 (0.37)	3644.84 ± 21.14 (0.58)	69.63	810	2.50	1
Autumn	18721.65 ± 62.30 (0.33)	6072.54 ± 26.76 (0.44)	57.05	810	0.86	1
Winter	18701.18 ± 74.16 (0.40)	8027.66 ± 39.36 (0.49)	46.93	800	1.09	1
Heath						
Spring	22728.69 ± 200.97 (0.88)	11217.66 ± 115.33 (1.03)	42.60	1030	0.36	2
Summer	21653.12 ± 129.04 (0.60)	13530.29 ± 90.95 (0.67)	29.52	990	0.21	5
Autumn	21981.18 ± 144.32 (0.66)	11370.59 ± 86.59 (0.76)	40.00	990	0.79	5
Winter	21636.56 ± 68.73 (0.32)	11853.58 ± 43.62 (0.37)	36.54	900	0.49	3
<i>Laurus nobilis</i> L.						
Spring	20276.01 ± 88.13 (0.43)	4620.31 ± 29.24 (0.63)	66.82	800	1.28	4
Summer	20810.72 ± 46.82 (0.22)	4857.66 ± 15.66 (0.32)	66.55	760	1.49	5
Autumn	19668.90 ± 76.83 (0.39)	6155.12 ± 31.88 (0.52)	58.50	780	0.97	5
Winter	20082.60 ± 131.02 (0.65)	6976.18 ± 58.58 (0.84)	55.29	760	0.79	4
<i>Pinus pinaster</i> Aiton						
Spring	19480.91 ± 35.41 (0.18)	6524.59 ± 15.47 (0.24)	56.30	650	1.04	4
Summer	20658.80 ± 61.11 (0.30)	7645.81 ± 28.42 (0.37)	53.50	640	0.84	5
Autumn	20463.05 ± 103.76 (0.51)	5867.91 ± 39.95 (0.68)	61.50	640	0.91	4
Winter	20398.48 ± 79.11 (0.39)	6028.61 ± 31.28 (0.52)	60.46	630	0.71	3

Table 3 (Continued)

	HHV (kJ kg ⁻¹) (%)	LHV (kJ kg ⁻¹) (%)	M	D	AB	F
<i>Pinus radiata</i> D.						
Spring	21047.31 ± 48.04 (0.23)	7885.54 ± 22.42 (0.28)	53.33	850	0.69	2
Summer	20203.93 ± 52.38 (0.26)	5995.51 ± 20.81 (0.35)	60.27	790	1.06	4
Autumn	21833.44 ± 119.89 (0.55)	7740.45 ± 53.57 (0.69)	55.32	870	0.78	3
Winter	21402.49 ± 96.59 (0.45)	7876.39 ± 44.34 (0.56)	54.09	910	0.61	3
<i>Pinus sylvestris</i> L.						
Spring	21965.26 ± 50.21 (0.23)	8074.83 ± 23.08 (0.29)	54.03	890	0.53	4
Summer	21653.86 ± 48.38 (0.22)	6994.47 ± 20.12 (0.29)	58.41	840	0.29	4
Autumn	21619.80 ± 61.44 (0.28)	6332.93 ± 23.78 (0.38)	61.29	890	0.58	3
Winter	22155.57 ± 41.72 (0.19)	8452.04 ± 19.69 (0.23)	52.81	870	0.51	3
<i>Pteridium aquilinum</i> L.						
Spring	17625.89 ± 60.07 (0.34)	3470.82 ± 18.90 (0.54)	68.53	760	2.26	1
Summer	18967.45 ± 26.40 (0.14)	7043.96 ± 12.46 (0.18)	52.80	750	2.16	5
Autumn	18420.05 ± 65.90 (0.36)	7827.05 ± 34.52 (0.44)	47.62	780	1.18	5
Winter	18639.07 ± 56.54 (0.30)	2749.46 ± 15.53 (0.56)	72.53	700	2.74	3
<i>Quercus robur</i> L.						
Spring	17627.15 ± 45.37 (0.26)	4297.04 ± 17.53 (0.41)	61.36	640	0.66	5
Summer	18541.90 ± 78.72 (0.42)	7794.56 ± 41.09 (0.53)	47.80	620	2.28	5
Autumn	17468.03 ± 10.70 (0.06)	6654.84 ± 5.24 (0.08)	51.00	630	1.42	4
Winter	18112.93 ± 54.09 (0.30)	5451.04 ± 22.63 (0.42)	58.16	640	2.53	4
<i>Rubus fruticosus</i> L.						
Spring	17777.51 ± 11.11 (0.06)	5490.01 ± 4.67 (0.09)	57.97	940	1.96	4
Summer	18059.86 ± 30.88 (0.17)	4141.73 ± 10.60 (0.26)	65.66	930	0.84	5
Autumn	18478.28 ± 95.62 (0.52)	4969.06 ± 36.14 (0.73)	62.20	950	1.23	4
Winter	19466.00 ± 57.75 (0.30)	6810.34 ± 25.99 (0.38)	55.00	880	1.44	2
<i>Salix atrocinera</i> L.						
Spring	20185.41 ± 113.20 (0.56)	7012.40 ± 50.42 (0.72)	55.46	810	1.18	1
Summer	21341.49 ± 142.28 (0.67)	7001.01 ± 60.27 (0.86)	57.64	800	0.75	2
Autumn	19670.47 ± 106.03 (0.54)	6952.53 ± 48.12 (0.69)	54.62	790	0.47	2
Winter	19030.75 ± 115.67 (0.61)	6694.03 ± 52.27 (0.78)	54.81	720	0.22	1
<i>Sarothamnus scoparius</i> Link.						
Spring	20533.91 ± 46.04 (0.22)	4698.03 ± 15.34 (0.33)	66.68	860	0.77	1
Summer	19019.07 ± 93.92 (0.49)	5031.57 ± 35.07 (0.70)	62.66	900	0.74	1
Autumn	20520.97 ± 51.88 (0.25)	8859.71 ± 27.21 (0.31)	47.55	870	0.15	2
Winter	20681.97 ± 96.94 (0.47)	5999.86 ± 39.75 (0.66)	59.00	640	0.32	2
<i>Ulex europaeus</i> L.						
Spring	20182.37 ± 64.15 (0.32)	5724.23 ± 24.81 (0.43)	61.32	830	0.68	1
Summer	20680.74 ± 73.71 (0.36)	6327.61 ± 29.86 (0.47)	59.49	860	0.73	2
Autumn	20950.41 ± 87.82 (0.42)	6901.04 ± 37.33 (0.54)	57.50	900	0.78	2
Winter	20488.22 ± 81.39 (0.40)	5726.12 ± 30.93 (0.54)	62.00	840	1.14	1

Mean heat value ± standard deviation of the mean = 20488.22 ± 81.39 (0.40%)

^aMoisture (%) = 100 × (initial weight of collected sample – weight of sample after drying)/initial weight of collected sample. Bomb ashes (%) = 100 × (weight of crucible and contents after combustion – weight of empty crucible)/weight of pellet.

a better interpretation of calorific values. It can be seen, on the one hand, the close relationship between LHV and moisture content (the lower the moisture content the greater the LHV) and, on the other hand,

HHV and ash content (the lower the ash content the greater the HHV).

Table 3 also shows average HHV and LHV over the seasons of the year corresponding to the different

forest species in the zone. From this table, it can be concluded that

- Highest LHV correspond to lowest moisture contents. Usually these values are observed in autumn or winter. These seasons are the most favorable for energetic exploitation of forest resources.

This energetic exploitation would be mainly based on collection of the forest residues originated

by different forestry works (bark, leaves and branches having diameters not greater than 6 cm) and also from periodical cuts of huge extensions of bushes with a yearly productivity of 3 t ha^{-1} . The collection of waste biomass must be done carefully to avoid damage to soil which could start defertilization and degradation of the zone. A rational exploitation of forest residues lead to a two-fold benefit, on the one hand, the disposal of forest residues which are

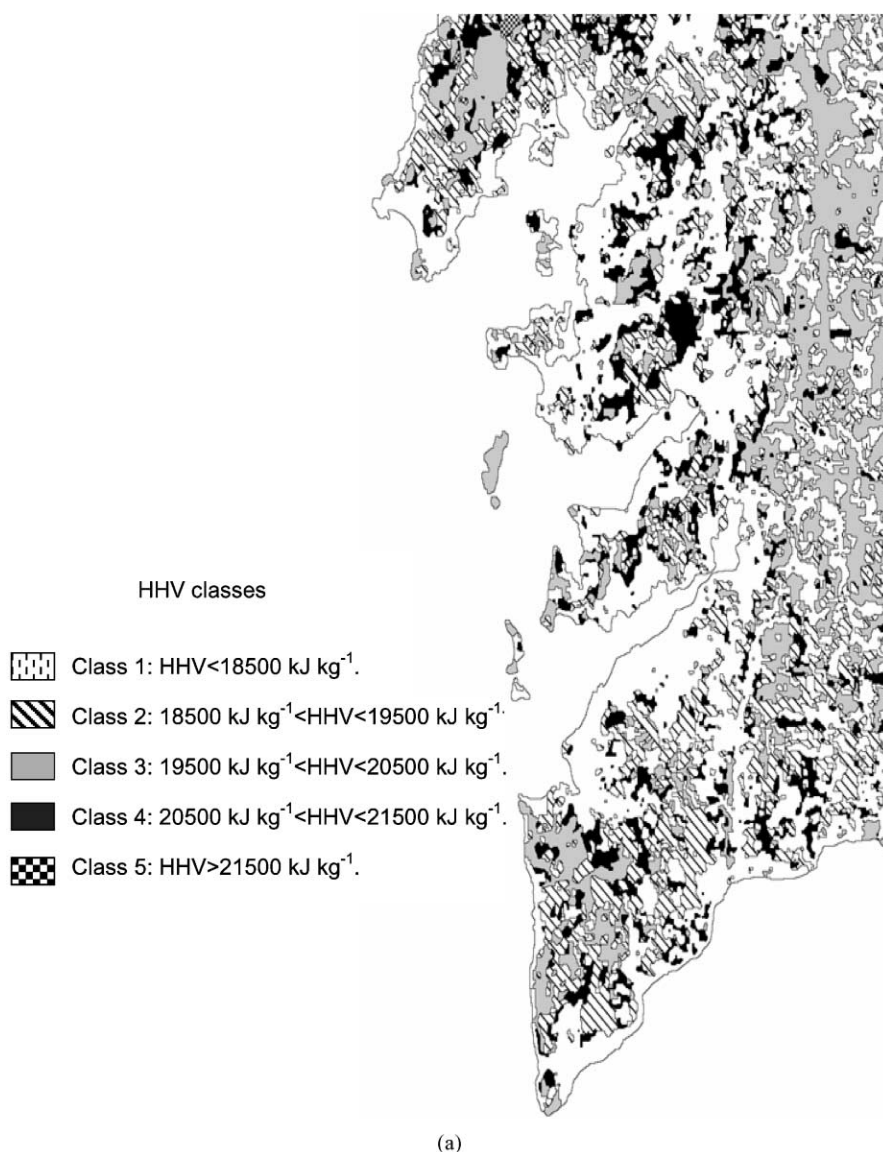


Fig. 2. Map of energy distribution in the coast zone of Galicia over the year.

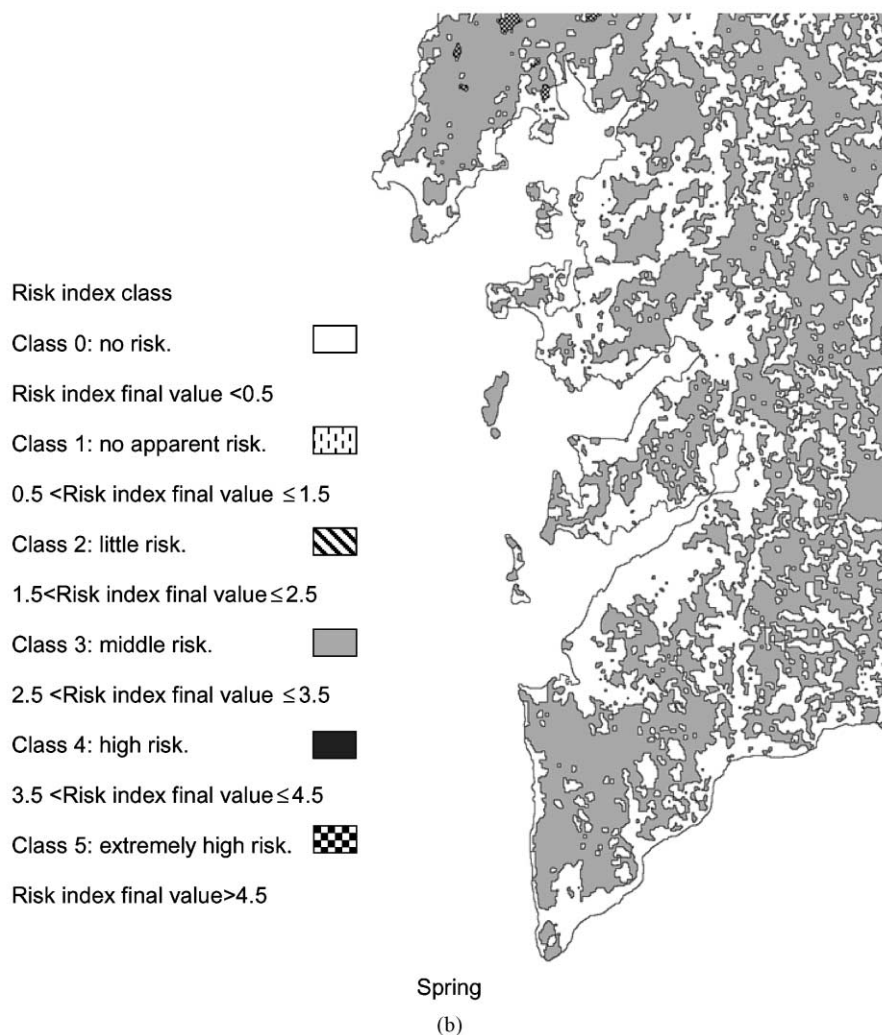


Fig. 2. (Continued)

mainly responsible for forest fires because they are easy to ignite and also rapidly spread fire. Nowadays, these forest residues having average LHV of 6800 kJ kg^{-1} (average HHV of 19759 kJ) and flammabilities close to 5 due to their low moisture content (30%) [12,13], as well as bush remains are abandoned on the forest without any control.

On the other hand, the energetic exploitation of this resources could lead in Galicia to a yearly production of $2.70 \times 10^8 \text{ kW h}$; i.e. 120 millions dollars which is approximately 60% of the investment to fight forest fires in Spain.

The knowledge of LHV and forest inventory allows the design of energetic maps. Fig. 2 shows the energetic map of the coast zone of Galicia over the year.

- Conifers showed the highest HHVs as a consequence of the great amount of resins generated by these species mainly in spring and summer. These resins have large HHV ($40,000 \text{ kJ kg}^{-1}$) and high flammability (5) [14]. Forest species were classified according to their HHV following the tables proposed by Valette [7] which were modified taking into account the realistic values of calorific

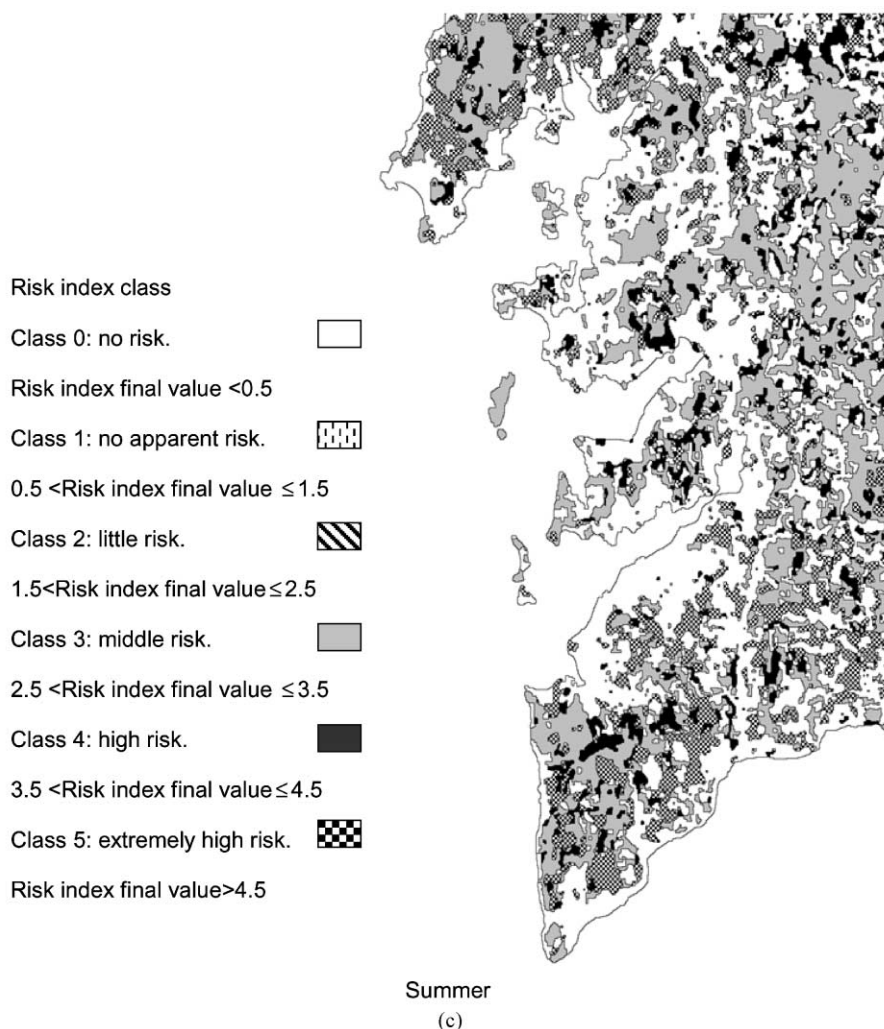


Fig. 2. (Continued)

values and flammability of the forest species existing in this zone of Galicia.

Table 3 also reports values of flammability. It can be seen that highest values, mainly for conifers, correspond to summer when rain is not frequent and average temperatures are high. This is the period in which wildfires are more probable to happen. For the most part of the species existing in the zone, their high HHV coincide with low values of flammability, thus, decreasing the risk of wildfires.

Combination of HHV, flammability, composition, and bioclimatic parameters allows the calculation of

risk indices of the different species [2,3]. Table 4 shows an example of calculation of risk indices of *P. pinaster* Aiton corresponding to spring and summer. The influence of the different parameters on the risk indices are pointed out. The study was made using 50-year-old trees. The table shows the change in the risk index value due to changes in all the different parameters used for calculation. HHV and flammability were experimentally determined in our laboratory. For biological characteristics, climate characteristics, and parameters depending on physical environmental conditions, the study was made using available literature data of the zone for the last 40 years. After

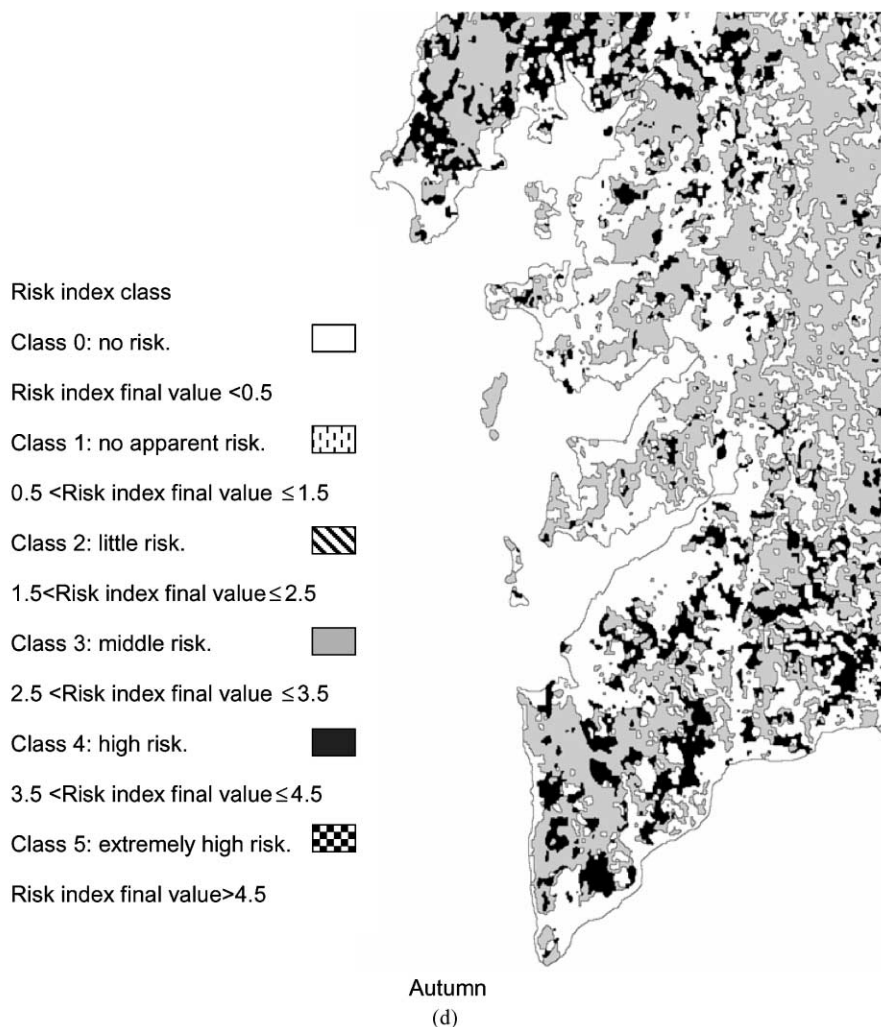


Fig. 2. (Continued)

analysis of all these data, it was considered that numerical contributions were physico-chemical properties 10% (0.1), biological characteristics 20% (0.2), climate characteristics 50% (0.5), and parameters depending on physical environmental conditions 20% (0.2).

At the same time, each of the mentioned factors depend on some other parameters. Again, the different numerical contributions are ascribed through analysis of existing data. As an example, physico-chemical properties contribute 10% (0.1) to change the main risk index number. This contribution depends on density 15% (0.15), own moisture 80% (0.8), and

bomb ashes after combustion 5% (0.05). This means that for instance, own moisture contribution to the final risk index is $0.1 \times 0.8 = 0.08M$, where M is the own moisture content in a normalized scale. Similar calculations can be made for all the different factors. Climate characteristics 50% (0.5) depend, among other parameters, on rainfall 40% (0.4), that in turn depends on monthly mean amount of rain (mm) 50% (0.5) and periodicity contribution to change the risk index is $0.5 \times 0.4 \times 0.5 = 0.1P$, where P is the periodicity in a normalized scale.

To work out values of the different parameters in the normalized scales, we proceed as follows. Let us

Table 4

Risk index calculation of one of the species (50-year-old *P. pinaster* Aiton) collected in spring and summer in north coast

		Experimental values		Calculated values	
		Spring	Summer	Spring	Summer
Thermochemical parameters					
HHV class number		2	4		
Flammability class number		4	5	3	4.5
Physico-chemical properties (10%)					
Density (kg m ⁻³)	15	650	640		
Own moisture (%)	80	56.3	53.50		
Bomb ashes after combustion (%)	5	1.04	0.84	0.0026	−0.0007
Biological characteristics (20%)					
Physiological activity	10	High	Middle–high		
Essential oils/resins	20	Middle–high	Middle–high		
Age	10	Old	Old		
Habit	10	Conifers	Conifers		
Forest waste generated	20	Middle–high	Middle–high		
Forest cover around	10	Middle	Middle		
Perennial/deciduous	10	P	P		
Blooming period	10	April–May	April–May	−0.0113	0.0311
Climate characteristics (50%)					
Rainfall	40				
Monthly amount (mm)	50	54.83	−47.17		
Periodicity	50	Very low	Low		
Mean temperature (°C)	20	13.6	17.47		
Hydric availability (mm per month)	30	154.83	52.83		
Environmental humidity (% per month)	10	70	60	−0.0167	0.1835
Parameters depending on physical environmental conditions (25%)					
Zone wind	30				
Strength	50	Middle–strong	Middle–low		
Periodicity	50	Regular	Regular–low		
Clouds	10				
Amount	50	Abundant	Regular		
Regularity	50	Abundant	Low		
Topography	20	Unfavorable	Unfavorable		
Sun radiation	10				
Sunshine (%)	50	Middle–low	Middle–high		
Sunny days	50	Middle–low	Middle–high		
Anthropic activity	30	Middle–high	Middle–high	−0.0320	−0.0141
Risk index final value				2.90	4.70
Risk index class				3	5

consider the influence of own moisture content of *P. pinaster* Aiton collected in summer. Analysis of Table 3 shows that moisture content for the different species in the zone goes from 70.66%, the most resistant to forest fire, to 29.52%, the most favorable to forest fire. The mean of these two values is 50.09% and the difference between them, 41.14%, which is normalized to unity. In our scale, 50.09% corresponds

to 0, 70.66% corresponds to −0.5, the most resistant to forest fire, and 29.52% corresponds to +0.5, the most favorable to forest fire. Subtracting *P. pinaster* Aiton summer moisture 53.50 from 50.09 renders −3.41 which in the normalized scale corresponds to $-3.41/41.14 = -0.08$.

So the influence of *P. pinaster* Aiton, in summer, to the risk index number is $0.08 \times (-0.08) = -0.0064$.

Same analyses and calculations were done over the different parameters affecting the various aforementioned contributions.

The final risk index number is rounded to the next higher 1-decimal number, 4.7, and this is the value used in our prevention studies. However, to increase prevention, this number could be rounded to the next higher 0.5-decimal number, 5.

In this study, the different forest species were arranged according to Table 5.

There are biological parameters having a strong influence on the risk index calculation. Some of them must be underlined.

Table 5

Risk index classes

Class 0	Risk index final value <0.5: no risk
Class 1	$0.5 < \text{risk index final value} \leq 1.5$: no apparent risk
Class 2	$1.5 < \text{risk index final value} \leq 2.5$: little risk
Class 3	$2.5 < \text{risk index final value} \leq 3.5$: middle risk
Class 4	$3.5 < \text{risk index final value} \leq 4.5$: high risk
Class 5	Risk index final value >4.5: extremely high risk

- Age of the forest species: part of the cellulose is progressively substituted by lignin with large HHV, approximately $26,000 \text{ kJ kg}^{-1}$ [14].

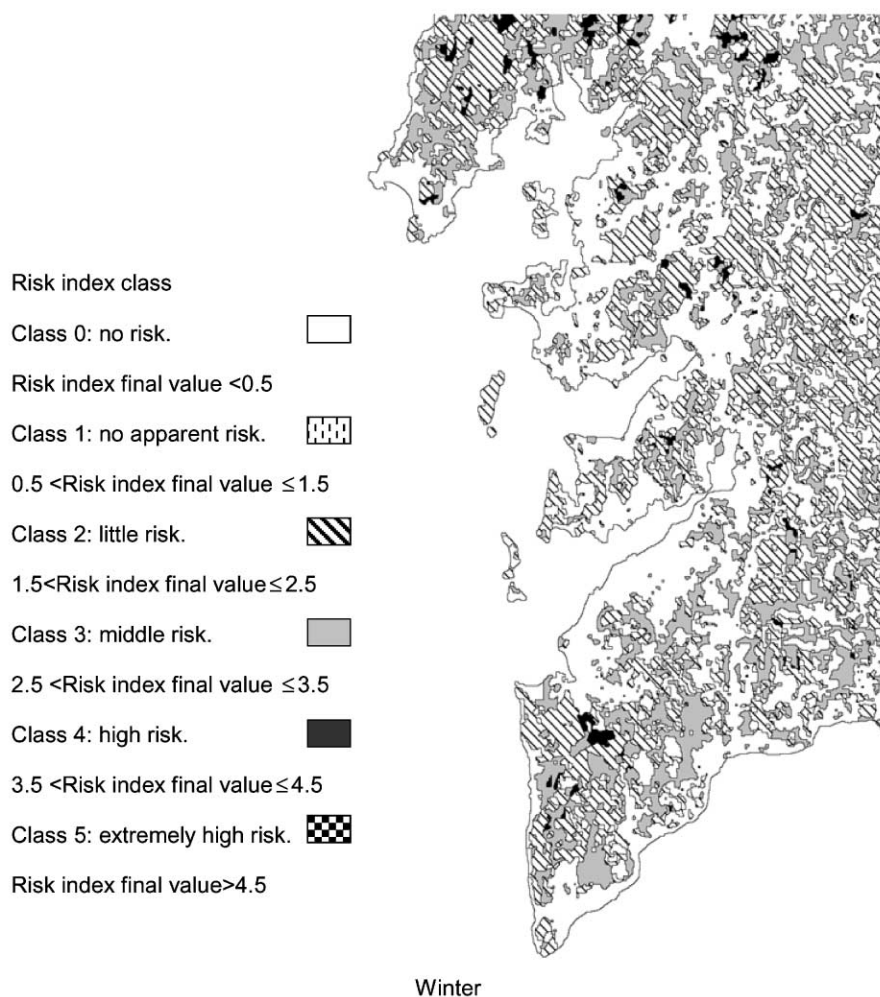


Fig. 3. Map of risk index distribution in the coast of Galicia over the year.

Table 6
General data used for calculation of risk indices [1]

	Surface (%)	HHV classes				Flammability				Risk indexes			
		Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter	Spring	Summer	Autumn	Winter
North coast													
<i>P. pinaster</i> Aiton	14	2	4	3	3	4	5	4	3	3	5	4	3
<i>P. radiata</i> D.	1.4	4	3	5	4	2	4	3	3	3	4	4	4
<i>P. sylvestris</i> L.	0.35	5	5	5	5	4	4	3	3	5	5	4	4
<i>E. globulus</i> Labill.	7	2	4	2	1	4	4	4	3	3	4	3	3
Conifers + hardwoods	3.5	3	4	3	3	3	4	4	3	3	4	3	3
Conifers + <i>Eucalyptus</i>	42.7	4	4	4	3	1	2	2	1	3	3	3	2
Other species	1.05	1	2	1	1	5	4	4	3	3	3	3	2
Bushes	30	4	4	4	4	1	3	3	2	3	4	4	3
Overall risk index of the zone										3	4	3	3
No forestry (35%) + bushes (22.5%) + forestry (42.5%) = 450000 ha													
South coast													
<i>P. pinaster</i> Aiton	24	2	4	3	3	4	5	4	3	3	5	4	3
<i>P. radiata</i> D.	2.4	4	3	5	4	2	4	3	3	3	4	4	4
<i>P. sylvestris</i> L.	1.8	5	5	5	5	4	4	3	3	5	5	4	4
<i>E. globulus</i> Labill.	5.4	2	4	2	1	4	4	4	3	3	4	3	3
Conifers + hardwoods	4.2	3	4	3	3	3	4	4	3	3	4	3	3
Conifers + <i>Eucalyptus</i>	20.4	4	4	4	3	1	2	2	1	3	3	3	2
Other species	0.6	1	2	1	1	5	4	4	3	3	3	3	2
Bushes	40	3	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	2
Overall risk index of the zone										3	4	4	3
No forestry (35%) + bushes (30%) + forestry (30%) = 400000 ha													
Related to HHV, the different forest species were classified as follows													
Class 1	HHV <18500 kJ kg ⁻¹												
Class 2	18500 < HHV < 19500 kJ kg ⁻¹												
Class 3	19500 < HHV < 20500 kJ kg ⁻¹												
Class 4	20500 < HHV < 21500 kJ kg ⁻¹												
Class 5	HHV >21500 kJ kg ⁻¹												
Related to flammability													
Class 0	Very low flammability												
Class 1	Low flammability												
Class 2	Flammable												
Class 3	Moderately flammable												
Class 4	Very flammable												
Class 5	Extremely flammable												

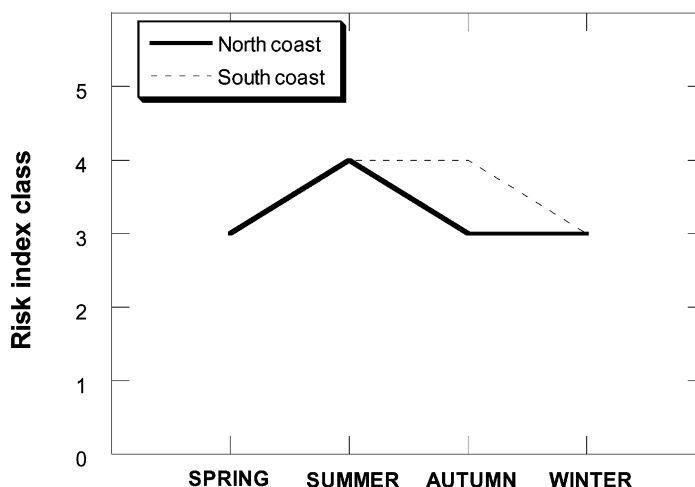


Fig. 4. Risk index evolution over the year of the two coast zones of Galicia.

- Blooming period, in which moisture content is extremely high (abundant green parts, flowers, young leaves, etc.).
- Generation of forest residues having large HHV ($19,000 \text{ kJ kg}^{-1}$), high flammability (4–5), and low moisture content (<30%) [12,13], very easy to ignite and also to spread fire.
- Presence of essential oils and resins, with large HHV ($40,000 \text{ kJ kg}^{-1}$) [14] that in summer created highly flammable atmospheres.

Combination of forest inventories and risk indices leads to the design of risk index maps. These maps are very understandable and very useful to prevent and to fight forest fires. As an example, Fig. 3 shows the risk index maps corresponding to the south coast of Galicia over the year.

Evolution of the average risk index of this zone is shown in Fig. 4. It can be seen that these risk indices show their maximum value in summer.

Table 6 shows the percentage of space taken up by the different plants, as well as their risk indices. Highest values of these indices correspond to periods with high temperatures and low environmental humidity commonly in summer. Conifers are the species with highest risk indices as a consequence of their capacity to originate resins. As a whole, the north coast present risk indices lower than the south coast. This is a consequence of the adverse weather condi-

tions, and also to differences between both HHV and flammabilities corresponding to the two coast zones.

Finally, it can be observed that bushes and conifer species, because of their abundance, markedly influence on the behavior of the remaining biomass existing in the zone.

4. Conclusions

The calorific values and flammabilities of the different forest species making up the woodland map of the coast of Galicia were measured. These parameters together with some other experimentally measured or available from literature were used to design forest biomass indices maps very useful to fight and/or to prevent forest wildfires.

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain), for their help, César Labarta Carreño and SADER for the analysis of samples, and José Proupín for his help with text processing.

Part of this study was supported by Secretaria Xeral de Investigación (Xunta de Galicia) under the grant XUGA 20608B98.

References

- [1] Segundo Inventario Forestal Nacional 1986–1995, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, ICONA, Madrid, 1993.
- [2] L. Núñez-Regueira, J. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras, *Bioresource Technol.* 69 (1999) 23.
- [3] L. Núñez-Regueira, J. Rodríguez, J. Proupín, B. Mouriño, *Thermochim. Acta* 328 (1999) 111.
- [4] Resumo de Datos Climatolóxicos de rede das Estacións do Centro de Investigacións Forestais de Lourizán 1955–1994, Xunta de Galicia, Consellería de agricultura, Gandería e Montes, Santiago de Compostela, 1995.
- [5] G.M. Byram, Combustion of forest fuels, in: K.P. Davis (Ed.), *Forest Fire Control and Use*, McGraw-Hill, New York, 1959.
- [6] C. Chandler, P. Cheney, P. Thomas, L. Traub, D. Williams, *Fire in Forestry*, Vol. 1, Krieger, Malabar, FL, 1991.
- [7] J.Ch. Valette, Documentos del seminario sobre métodos y equipos para la prevención de incendios forestales, ICONA, Madrid, 1988.
- [8] W. Hubbard, D. Scott, G. Waddington, in: F.D. Rossini (Ed.), *Experimental Thermochemistry*, Interscience Publishers, New York, 1956, p. 5.
- [9] D. Wagman, W. Evans, V. Parker, R. Schumm, L. Halow, S. Bailey, K. Churney, R.J. Nuttall, *Phys. Chem. Reference Data*, 1982, p. 11.
- [10] J.L. Montero de Burgos, J.L. González Rebollar, *Diagramas Bioclimáticos*, ICONA, Madrid, 1983.
- [11] A. Lehninger, in: S.A. Omega (Ed.), *Bioquímica*, Barcelona, 1979.
- [12] J. Rodríguez-Añón, M. González, F. Fraga, J. Palacios, L. Núñez, *J. Thermal Anal.* 41 (1994) 1393.
- [13] L. Núñez-Regueira, J. Rodríguez, J. Proupín, B. Mouriño, *Thermochim. Acta* 328 (1999) 105.
- [14] L. Elvira Martín, C. Hernando Lara, *Inflamabilidad y Energía de las Especies de Sotobosque*, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Ministerios de agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, 1989.
- [15] L. Núñez-Regueira, J. Proupín-Castiñeiras, J.A. Rodríguez-Añón, *Bioresource Technol.* 71 (2000) 51.
- [16] J.A. Rodríguez-Añón, F. Fraga López, J. Proupín-Castiñeiras, J. Palacios Ledo, L. Núñez-Regueira, *Bioresource Technol.* 52 (1995) 269.
- [17] L. Núñez-Regueira, J. Proupín-Castiñeiras, J.A. Rodríguez-Añón, *Bioresource Technol.* 57 (1996) 283.
- [18] L. Núñez-Regueira, J. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras, *Bioresource Technol.* 61 (1997) 111.

The influence of some physicochemical parameters on the microbial growth in soils[☆]

Lisardo Núñez-Regueira^{*}, O. Núñez-Fernández, J.A. Rodríguez Añón,
J. Proupín Castiñeiras

*Department of Applied Physics, Faculty of Physics, Research Group TERBIPROMAT, Universidade de Santiago de Compostela (USC),
15782 Santiago de Compostela, Spain*

Received 12 December 2001; received in revised form 20 February 2002; accepted 5 March 2002

Abstract

Microcalorimetric techniques have been used to study the influence of different physicochemical parameters on microbial growth in different soils in Galicia (NW Spain). The study was carried out using a 4 channels Thermal Activity Monitor (Thermometric, Sweden). Two types of soil, humic cambisol and umbric regosol, with different uses, vineyard, orchard, maize field, and scrubland, were investigated. Microbial activity in all the soils studied was stimulated by the addition of 1.25 mg of glucose g⁻¹ soil. The power–time curves recorded from every experiment were analysed and from these analyses characteristic parameters such as peak time, peak height and microbial growth rate constants were determined. The influence of different environmental parameters, temperature (ambience and soil), moisture content (sample and residual), pH in water, and C/N ratio, were considered.

© 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Soil microcalorimetry; Microbial growth; Environmental parameters

1. Introduction

The potential productivity of a soil is closely related to its microbial load. At the same time, this microbial load can be used as an index to indicate soil degradation as a consequence of different factors going from an intensive and inappropriate agricultural exploitation to diverse contamination phenomena and/or forest fires. Because of this, the techniques used to study microbial activity can be very helpful

to analyse the evolution of microbial population in soils under different situations. Microcalorimetry has shown as an important tool in the study of microbial activity in soils and its use is increasing nowadays [1–5].

Microcalorimetry has been successfully employed to study metabolism and microbial growth in soils as it permits the continuous monitoring of the activity of a living process in situ for a prolonged period without disturbing the system [5–9]. It is an useful tool for evaluating the metabolism of microbial biomass in soils because the heat produced in the various processes depends solely on the initial and final energy states of the system, and is independent of the types of micro-organisms and their form of evolution. Nevertheless it has rarely been used to study microbial

[☆] Presented at the XII ISBC, 7–11 September 2001, Santiago de Compostela, Spain, and dedicated to Richard B. Kemp on the occasion of his 60th birthday.

^{*} Corresponding author. Tel./fax: +34-981524350.

E-mail address: falisar1@uscmail.usc.es (L. Núñez-Regueira).

growth in soil because of the practical difficulties of obtaining results for such a heterogeneous system [4,5,10,11].

Microcalorimetric measurements have generally been made using a close ampoule method which causes a decrease in the available O₂ with a corresponding CO₂ enrichment. Consequently, the environmental conditions change inside the closed ampoule [2].

In this paper, we investigated the influence that the concentration of a carbon source (glucose) has on the microbial activity in soils [2–4]. With this aim, six soils were collected in four different zones situated in Galicia (NW Spain). These soils were different both in use and origin.

2. Experimental

The main objective in field sampling was to collect a representative soil material for two types of soils, humic cambisol and umbric regosol, with different uses: vineyard, orchard, maize field, and scrubland (soils recovered using mining residues and covered by young bushes). It was intended to study how the use of soil influence on the global microbial population. Soil samples were collected from different rectangular plots of land (40 m² size) situated in the northern part of Galicia: Leiro (1a y 1b) and As Pontes (2a y 2b) in A Coruña, and two in the southern part:

Cambados (3) and Porto do Cordeiro (4) in Pontevedra. The usefulness of the experimental measurements depends greatly on the samples being representative [2–4].

After sampling, soils were characterised by measuring different parameters such as: water-holding capacity, C, N, pH, and water content. For each of the six soils, the sampling was made from 10 randomly chosen points from each site. The samples were collected from a depth of 5–15 cm, after removal of surface material. The samples taken from each site were then carefully mixed in order to achieve a bulk sample representative of the soil to be studied. This bulk sample was placed in polyethylene bags, to reduce moisture losses, and returned to the laboratory. The soil was then sieved (mesh size 2 × 2 mm²) and the water content determined gravimetrically after oven drying at 105–110 °C to constant weight. Soil organic matter was measured as total C. Soil pH was determined using a Crison pH-meter. The measurements were performed introducing the electrode in supernatant solution prepared using 10 g of soil and 25 ml of water. Total nitrogen was determined by Kjeldahl, and water-holding capacity was determined by using a glass tube fitted with a fritted glass disc in the bottom being immersed in water [5]. The remaining bulk sample was stored in polyethylene bags at 4 °C for up to 3 months [2] before being used for the calorimetric experiments to ensure reproducibility of measurements.

Table 1
Main environmental parameters corresponding to the different sampling zones

Month	Northern zone (Leiro and As Pontes)				Southern zone (Cambados and Porto do Cordeiro)			
	Temperature (°C)	Rainfall (mm)	Evapotranspiration (mm)	Hydric availability (mm)	Temperature (°C)	Rainfall (mm)	Evapotranspiration (mm)	Hydric availability (mm)
January	6.6	222	16	322	10.0	227	20	327
February	6.8	194	23	294	10.8	177	30	277
March	9.0	161	47	261	12.6	144	60	244
April	9.9	120	69	220	14.3	122	81	222
May	12.5	112	97	212	16.0	131	108	231
June	15.1	75	108	175	19.1	61	133	161
July	17.2	35	122	102	21.0	31	152	59
August	17.3	63	101	63	20.7	47	115	47
September	16.2	102	58	102	18.7	115	56	115
October	13.3	146	39	191	16.2	149	47	208
November	9.4	198	17	298	12.8	201	16	301
December	7.1	255	15	355	10.1	195	15	295

Calorimetric experiments were performed using a microcalorimeter 2277 thermal activity monitor (Thermometric AB, Sweden), which is a commercial version of that developed by Suurkuusk and Wadsö [12]. Measurements were carried out in hermetically sealed 5 ml stainless steel ampoules. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose g⁻¹ soil. Experiments at each concentration were repeated five times. The reference ampoule was filled with 1 ml of distilled water [2,13,14]. We have found that the results obtained by doing this agree reasonably well with those obtained using a soil as reference [2–4, 14–17].

3. Results and discussion

Main climatic characteristics of the four zones studied are shown in Table 1. Environmental conditions are key on the formation and evolution of soils. Because of this, the data here shown are very important in order to analyse and understand the influence of environment on physicochemical characteristics of soils and on the microbial population.

All the experiments were carried out at 25 °C. Microbial growth rate constant, μ , was quantified from the power–time curves recorded by the calorimeter. This value is only an apparent one and does not give information about the biochemical activity of the

Table 2
Physicochemical properties of the different soils studied

Zone and use	Temperature (°C)		Moisture (%)		Field capacity (%)	C/N	pH
	Soil	Ext.	Sample	Residual			
(1) Leiro							
Humic cambisol							
(1a) Vineyard	14.8	21.9	6.26	1.67	18.84	10.63	4.56
(1b) Orchard	15.7	23.8	3.91	1.78	17.34	10.97	6.39
(2) As pontes							
Humic cambisol							
(2a) Vineyard	17.8	22.0	10.91	2.03	19.67	10.25	5.54
(2b) Maize field	18.1	21.5	15.76	2.51	18.62	11.00	5.72
(3) Cambados							
Umbric regosol	14.5	20.0	13.36	4.98	32.14	17.47	4.53
(4) Porto do Cordeiro							
Umbric regosol	15.5	21.2	21.98	4.03	27.39	13.49	3.76

Table 3
Main calorimetric parameters obtained from microcalorimetric experiments

	Soils					
	1a	1b	2a	2b	3	4
Q_t^a (J g ⁻¹)	3.35 ± 1.10	2.36 ± 0.46	3.40 ± 0.27	1.81 ± 0.94	2.47 ± 0.70	1.53 ± 0.75
P_t^b (h)	15.05 ± 0.36	14.32 ± 1.11	11.05 ± 5.63	8.30 ± 0.43	19.23 ± 0.66	26.26 ± 0.69
Qp^{height^c} (J g ⁻¹)	0.55 ± 0.33	0.75 ± 0.20	1.08 ± 0.50	1.30 ± 0.47	1.55 ± 0.46	0.98 ± 0.45
μ^d (h ⁻¹)	0.438 ± 0.134	0.337 ± 0.041	0.451 ± 0.027	0.641 ± 0.082	0.285 ± 0.089	0.126 ± 0.029
R^e	0.985 ± 0.016	0.997 ± 0.003	0.997 ± 0.001	0.998 ± 0.001	0.988 ± 0.008	0.991 ± 0.002

^a Total heat evolved up to the peak of the power–time curve.

^b Time to reach the peak.

^c Heat in the peak.

^d Microbial growth rate constant.

^e Correlation index.

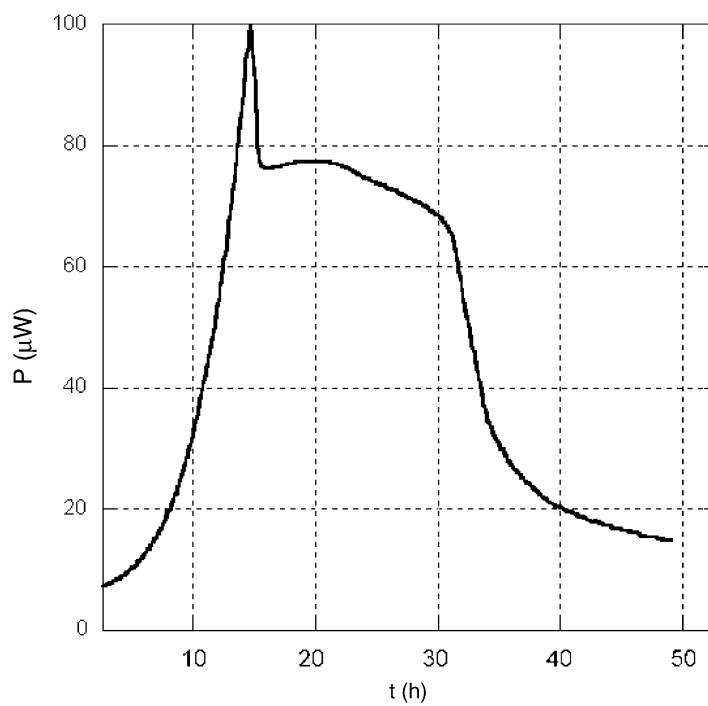


Fig. 1. P (μW)– t (h) plot: soil 1a (vineyard).

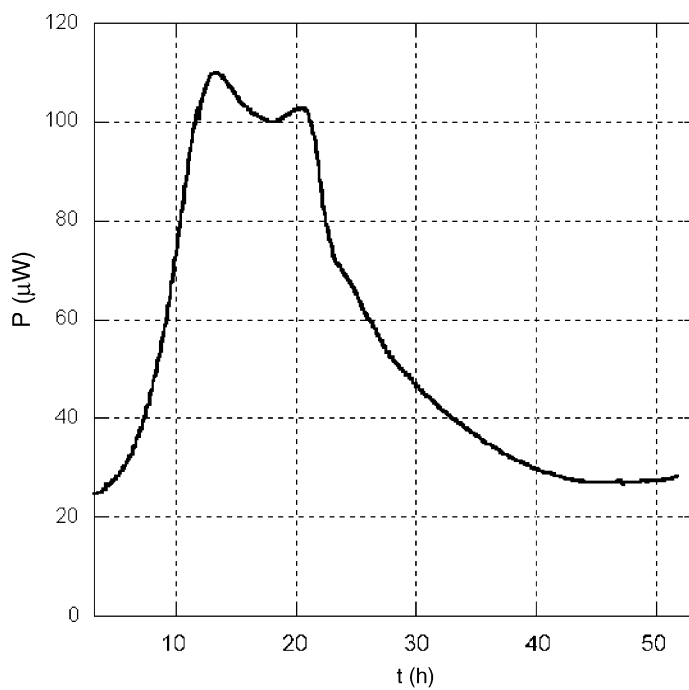


Fig. 2. P (μW)– t (h) plot: soil 2a (vineyard).

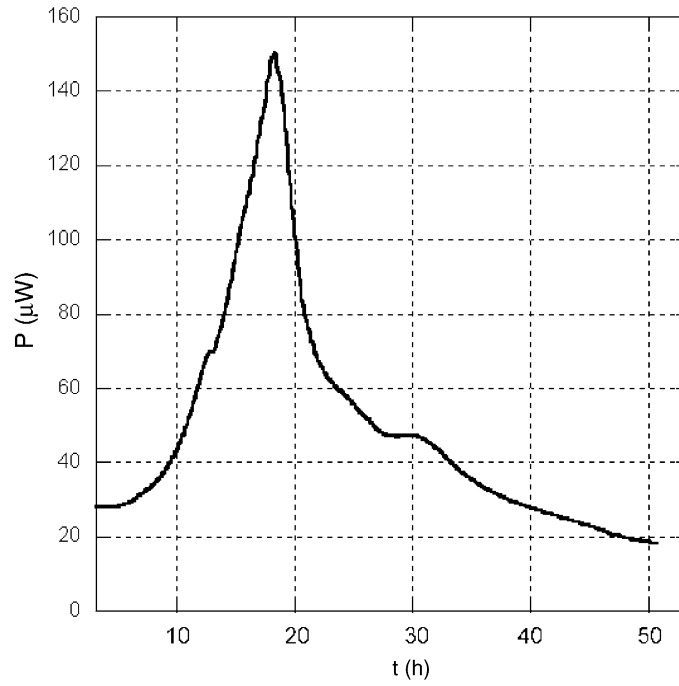


Fig. 3. P (μW)– t (h) plot: soil 1b (orchard).

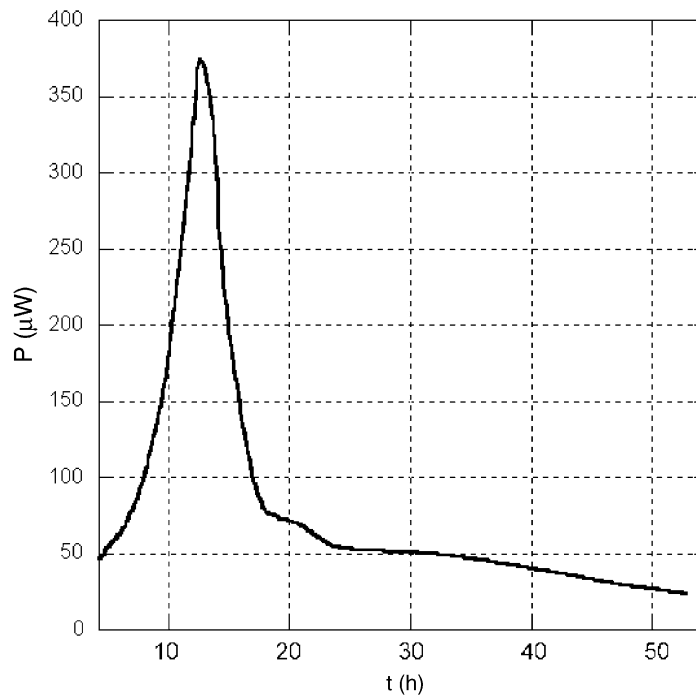


Fig. 4. P (μW)– t (h) plot: soil 2b (maize field).

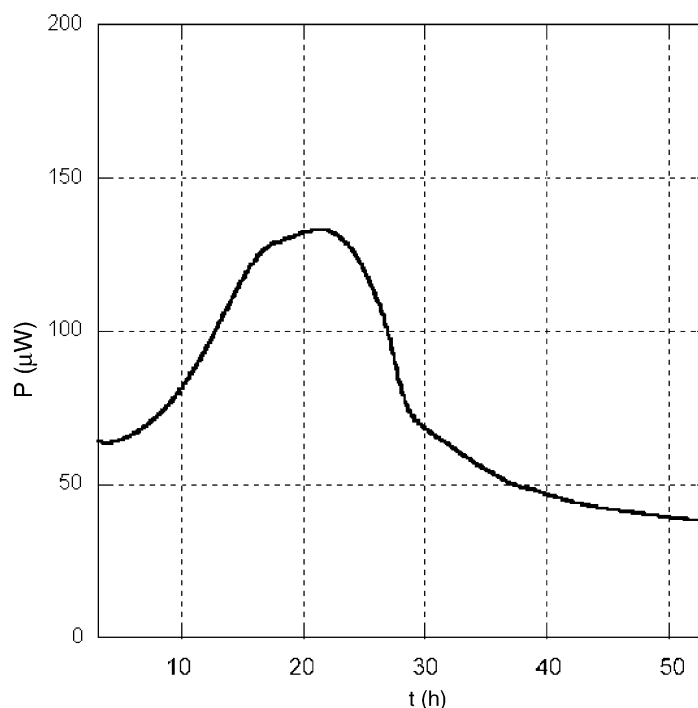


Fig. 5. P (μW)– t (h) plot: soil 3 (scrubland).

individual microbes. However, since heat evolution is also proportional to the amount of glucose degraded, it can reasonably be considered as the specific degradation rate of glucose under the given conditions in soil, and may be used as an index to express how fast the material is decomposed by microbial action [1].

Main physicochemical properties of the different type of soils studied are listed in Table 2. From the analysis of this table it follows:

1. All the soils studied show strong acid pH values. This could be a consequence of their high organic matter load (>4%) and also of the fact that they are excessive washed by abundant rains. Moreover, these soils originated from granite. It must be pointed out that the value $\text{pH} = 6.90$ corresponding to soil 1a is due to the traditional use of lime, very common in the treatment of agriculture soils in Galicia. This is corroborated by the fact that the main part of vegetal species growing in Galicia show the need for neutral pH. On the opposite, it must be underlined the value 3.76 corresponding to

soil 4. This value is probably due to soil composition, on the one hand mining residues and, on the other hand, organic matter in the onset of decomposition thus originating a great amount of fulvic and humic acids as a previous stage to “stabilisation” and generation of humus.

2. The ratio soil/environment temperatures supplies a valuable information about soil structure. In this way, it can be seen that degraded (low structured and highly compacted) soils 3, 4 show temperatures very similar to environment temperature. The reason is that the lack of structure hinders an appropriate regulation effect of soils before temperature changes [18–20]. However, soils 1a and 1b better structured and also protected by agriculture tasks show temperatures well differentiated from environment. Soils 2a and b, show also very similar temperatures. However, in this case, the similarity of temperatures was based on the fact that sampling was made immediately after seasonal crop collection and subsequent plough up, thus becoming cleared soils.

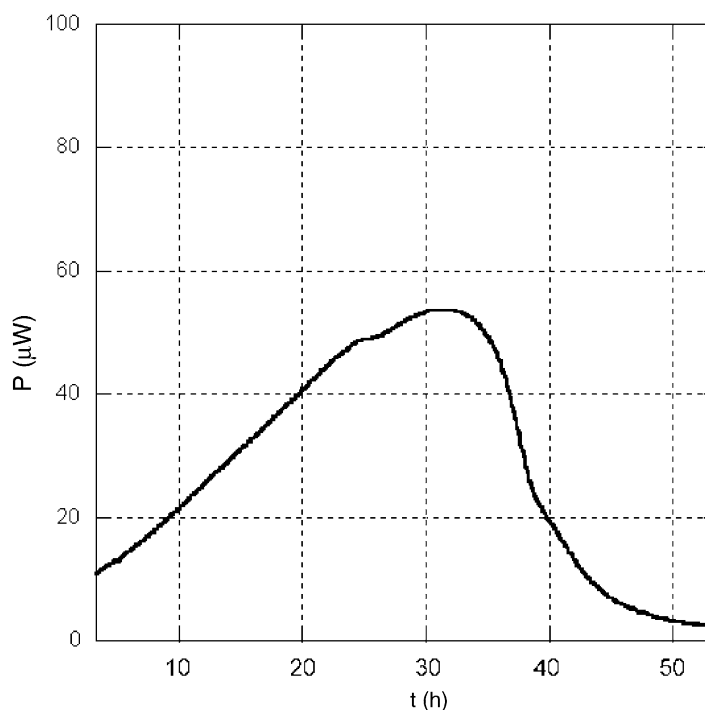


Fig. 6. P (μW)– t (h) plot: soil 4 (scrubland).

3. As expected, moisture contents both that corresponding to the sample and the residual moisture are lower for cultured soils as a consequence of an adequate drainage necessary to increase productivity, while scrubland soils show greater moisture contents. High moisture content conditions can originate anaerobiosis during long periods over the year and, as a consequence, the death of aerobic micro-organisms. In this case, the growth rate constant would show lower values.
4. A similar discussion can be made for field capacity, as the well-structured soils show lower values than those corresponding to compacted soils. The ratio C/N, very important to determine the degree of mineralisation, is again greater for soils 3 and 4 as a consequence of their low degradation and, also, of the composition of these soils originating from mining residues. The high value of these ratios constitute a hindering to vegetative species in these kind of soils, thus favouring the growing of minor species such as erica spp. and bushes.

The influence of each parameter on microbial growth was considered separately as these parameters depend both on the environmental conditions and the use of soil, that change seasonally over the year. The reason for considering separately each of the factors is to avoid overlapping that could obscure our study. By doing so, the response of the microbial community to the stimulus caused by changes in the different seasonal parameters can be analysed. Anyway, as it is well known, all these parameters are interrelated when considering environmental phenomena.

Table 3 shows results obtained from the calorimetric experiments performed. As expected, values of the growth rate constant are lower for scrubland soils 3 and 4 as a consequence of their low structure, high compaction, high moisture content, very changeable thermal regime and a high dependence on environment. These soils show also a very poor variety of vegetative species, thus conditioning the relationship between micro-organisms and soil, because, as it is known, the greater the vegetal species variety, the greater the amount and variety of micro-organisms as

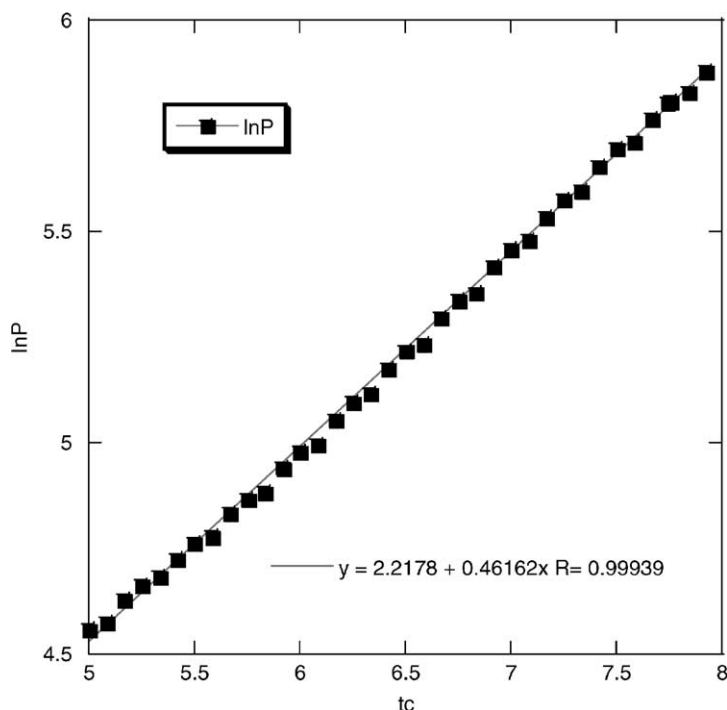


Fig. 7. Plot of $\log P_t$ versus time obtained from the semilogarithmic conversion of power–time curves recorded from soil sample number 3.

it can be seen analysing values of thermal power obtained from the microcalorimetric experiment. On the opposite, soils 1a, 2a and 2b show high μ , being the last one the highest value of μ amongst all the soils studied, as a consequence of the addition of fertilisers. The low value of μ corresponding to soil 1b could originate from the fact that this soil was left fallow after being overexploited for years.

Figs. 1–6 show power (μW)–time (h) plots. As it can be seen, couples 1a and 2a, 1b and 2b, and 3 and 4, respectively, show similar shape. These similarities could be understood in terms of the use given to the different kinds of soils. All of them show, more or less, the different phases of latency, exponential growing, steady phase and decay.

Fig. 7 shows a power–time plot obtained from the semilogarithmic conversion of the curves recorded from a soil sampling containing $1.25 \text{ mg of glucose g}^{-1}$ soil. The resulting straight line is a proof of the exponential behaviour of the thermal power during the microbial growth induced by a carbon source. The microbial growth rate constant was calculated

from the slopes of the different straight lines. All the other experiments show a behaviour similar to soil 3.

4. Conclusions

Microcalorimetric technique shows as a suitable tool to study microbial growth in soils, the study can be made taking into account the physicochemical and biological properties of soils.

Cultivated soils show a greater microbial activity than soils not cultivated. Cultivated soils keep their properties nearly constant in values considered as optima for a good soil behaviour both from the physicochemical (pH, temperature, CO_2/O_2 ratio, C/N ratio, moisture content, etc.) and biological (nutrients, organic matter, etc.) points of view. Because of this, a rational exploitation of soils can allow a sustainable and stable microbial population thus indicating the maintenance of soil productivity. Degraded soils present low μ values.

Analyses the power–time curves lead to an understanding of microbial activity in similar soils, as it can be seen in Figs. 1–6.

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). Part of this research was sponsored by Xunta de Galicia through a fund project XUGA20608B98.

References

- [1] T. Kimura, K. Takahashi, J. General Microbiol. 131 (1985) 3083.
- [2] L. Núñez, N. Barros, I. Barja, Thermochim. Acta 237 (1994) 73.
- [3] L. Núñez, N. Barros, I. Barja, J. Therm. Anal. 41 (1994) 1379.
- [4] I. Barja, L. Núñez, Soil Biol. Biochem. 31 (1999) 441.
- [5] K. Ljungholm, B. Norén, R. Sköld, I. Wadsö, Oikos 33 (1979) 15.
- [6] W.J. Payne, Ann. Rev. Microbiol. 24 (1970) 17.
- [7] W.W. Forrest, Microcalorimetry, Academic Press, London, 1972, p. 285.
- [8] A.E. Beezer, Biological Microcalorimetry, Academic Press, New York, 1980, p. 247.
- [9] A.E. Beezer, Biological Microcalorimetry, Academic Press, New York, 1980, p. 43.
- [10] U. Mortensen, B. Noren, I. Wadsö, Bull. Ecol. Res. Committee (Stockholm) 17 (1973) 189.
- [11] G.P. Sparling, Soil Biol. Biochem. 13 (1981) 93.
- [12] J. Suurkuusk, I. Wadsö, Chem. Scripta 20 (1982) 155.
- [13] T. Kawabata, H. Yamano, T. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 47 (1983) 1281.
- [14] H. Yamano, K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 47 (1983) 1493.
- [15] E.H. Battley, Energetics of Microbial Growth, Wiley, New York, 1987, p. 255.
- [16] M. Isabel Barja, J. Proupín, L. Núñez, Thermochim. Acta 303 (1997) 155.
- [17] S. Itoh, K. Takahashi, Agric. Biol. Chem. 48 (1981) 271.
- [18] L.D. Baver, W.H. Gardner, W.R. Gardner, Soil Physics, 4th Edition, Wiley, New York, 1991.
- [19] J.K. Mitchell, Fundamentals of Soil Behaviour, 2nd Edition, Wiley, New York, 1993.
- [20] E.J. Plaster, La Ciencia del Suelo y su Manejo Paraninfo, Madrid, 2000.



INFLUENCE OF THE AGRICULTURAL EXPLOITATION PROCESSES ON THE PRODUCTIVITY CAPACITY CONTROL OF SOILS

Design of an experimental procedure

L. Núñez-Regueira^{}, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández*

Research Group Terbipromat, Department of Applied Physics, Faculty of Physics,
Av. J. M. Suárez Núñez s/n, University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela,
Spain

Soil productivity and health were analyzed using an experimental procedure designed for this kind of studies. The continuous loss of fertile soil obliged the Food and Agriculture Organization (FAO) to declare soil as an item to be protected as a support of the world society welfare. The procedure here described is in accordance with the premises necessary for a rational and sustainable development of soil and the resources it contains and can be used to study any soil all over the world.

The study was carried out using soil microbial population as a bioindicator of soil health. Microbial activity was followed using the microcalorimetric technique. The microcalorimetric study can be complemented through a deep analysis of soil physical, chemical and biological properties together with a study of the environmental properties that have a strong influence on the aforementioned properties and, thus on the microbial activity in soil. The different properties follow different ASTM, ISS/FAO, USDA, etc. well defined standards.

The experimental procedure reported in this work could be very helpful to create a data basis that could be useful to quantify and control soil potentiality or design soil decontamination and recovery systems.

Keywords: *microbial activity, microcalorimetry, productive capacity, rational and sustainable exploitation*

Introduction

In the last 100 years, as a consequence of the fast development of the present technological society, about one third of the world agriculture cultivable land was lost. This process is a direct consequence of the joint action of many factors going from the population boom in the developing countries to the erosion caused by deforestation. This alarm situation made the world society to react through the development of rational and sustainable processes of different resources as a survival unavoidable strategy. One of the vital resources is soil, that from the 1960's was included as priority task as one item to be protected as a support of the world society welfare. Soil is not only a physical mean in which our communities build houses, but also the direct or indirect origin of the most part of the products used in our daily diet, and also a highly complex system for storage and purification of water [1].

In this work we report the evolution of the design of an experimental procedure capable of both to evaluate the soil productive capacity and its health state as a function of the microbial load. For this reason, the

main objective of this study was to develop a procedure capable of being applied to every type of soil in every part of the world, providing the performance of the protocols pointed out in the procedure. With this purpose, samples of the different kinds of soils existing in Galicia (NW Spain) were collected and analysed during the last 12 years.

Microbial growth, in a highly heterogeneous medium [2, 3] such as soil was studied by microcalorimetry [4–6]. This technique was confirmed to be valid as an alternative method in the study of metabolism and microbial growth in soils, as it permits the continuous monitoring of the activity of a living process in situ for a prolonged period without disturbing the system [3, 7]. It is a useful tool for evaluating the metabolism of microbial biomass in soils because the heat produced in the various processes depends solely on the initial and final energy states of the system, and is independent of the type of microorganisms and their form of evolution. The study follows a 3-stage scheme based on the following assumptions [8]:

^{*} Author for correspondence: falisar1@usc.es

- the soil productive potentiality directly depends on its living phase. In this way, microbial growth is related to the productive capacity of soil
- microorganisms are real bioindicators of soil quality
- soil living phase evolution, and thus the study of microbial activity in soils, can be quantified by using microcalorimetry

The microcalorimetric study can be complemented through a deep analysis of soil physical, chemical and biological properties together with a study of the environmental properties that have a strong influence on the aforementioned properties and, thus on the microbial activity in soil [9, 10].

Experimental

Materials and methods

For a better understanding, this study was divided into three very well differentiated parts: sampling phase, microcalorimetric study, and analysis of physical, chemical, biological and physical environmental properties.

Sampling phase

From the ecological point of view, the study of a soil begins with a precise and detailed examination of it as a whole and also of the special characteristics of its surroundings. Samples were collected in four different seasonal periods with the objective of analysing the influence of all the properties on the yearly evolution of the microbial population activity in the soil.

The study was focused on a soil with an original vegetation of *P. pinaster Aiton*, that was subjected to two reforestations with *P. sylvestris L.* in the last years. The zone corresponds to a hillside zone situated in the north of Lugo (Galicia). This soil was designated as 1. A second soil situated 200 m far from this soil was named as 2, and have similar characteristics as regard as origin, composition and climate. The second soil keeps its original vegetation, *P. pinaster Aiton*, as it was not subjected to changes in the last 50 years. At a first stage, samples were collected in the same zone but from plots with different agriculture exploitation with the objective of analyzing the possible influence of different soil cultures on the soil microbial population. At the beginning, the sampling was made from about 10 randomly chosen points from each plot. After the removal of the very top layer of soil, samples were collected to a depth of about 15 cm. All samples from each were mixed and sieved. In the course of the study, it was checked that sampling should follow the procedure next described. Two different kinds of sample were taken, one for microcalorimetric measurements, and the other for determination of physical, chemical and biological parameters.

For collection of the first sample, 100 m² of soil were chosen that then were divided into 1 m² sites, 6 of which were randomly chosen after eliminating those situated in the borders. Before collecting samples, the vegetal cover on every site was removed, and then 1 kg of soil was taken from a depth of 5–15 cm. The sample was reduced through a coning and quartering procedure to a final size of about 400 g. By doing so, the sample was highly homogenized, thus allowing to obtain reproducible and representative [11] results and showing the diversity and the density of the microorganisms existing in the environment where the sample was collected. The samples were introduced into polyethylene bags, to avoid contamination and loss of moisture and then sent to the laboratory in less than 10 h. To collect the second sample, 10 kg of soil were taken following the procedure previously described.

Calorimetric phase

Once in the laboratory, it was found that, to obtain a good reproducibility, samples should be stored in a refrigerator at 4°C for up to three months [12]. After this time, calorimetric experiments were performed using a microcalorimeter 2277 thermal activity monitor (TAM) Thermometric AB [13]. Measurements were carried out in hermetically sealed 5 mL stainless steel ampoules. Microcalorimetric measurements were made using a closed ampoule method which causes a decrease in the available O₂ with a corresponding CO₂ enrichment. Consequently, the environmental conditions inside the closed ampoule change. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose g⁻¹ soil. This glucose concentration value was determined after trying different concentrations [6]. Experiments were repeated five times. The reference ampoule was filled with 1 mL of distilled water. It was found that the results obtained by doing this agree reasonably well with those obtained using a soil as reference. Calorimetric results showing soil behavior were reported in the form of power-time curves as shown in Fig. 1. In this plot, 4 different phases can be observed: latency phase, exponential growth phase, steady phase, and dead phase. The first 3 phases could be perfectly explained, but the fourth (dead phase) originated a doubt, because microbial death could be caused either by carbon source (glucose) exhaustion or by CO₂ accumulation, thus poisoning the ampoule environment. This doubt was solved by opening the ampoule in the course of the dead phase to allow the renewal of the ampoule atmosphere with income of new oxygen [14]. After closing the ampoule, the calorimetric experiment was let to continue. It was found that a continuous curve was recorded, thus showing that the dead phase was originated by exhaustion of the carbon source.

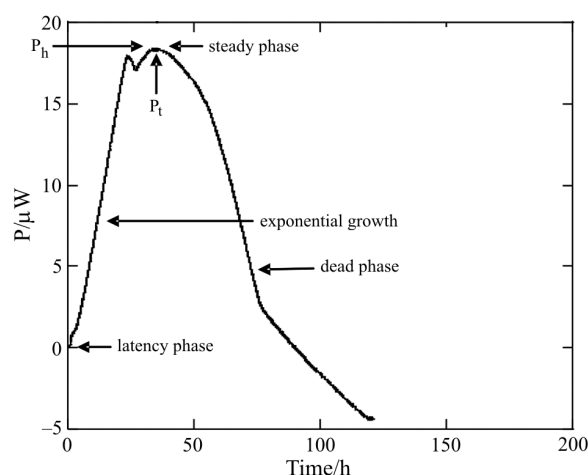


Fig. 1 Typical $P-t$ curve for microbial growth in soils

These calorimetric experiments were carried out over some years using different types of soils. It was observed that as a consequence of the different microbial load caused either by soil own origin or by the different types of soil exploitation [9] independently of soil origin, these phases follow a similar behavior pattern for soils with same use. As a control system of the results obtained by microcalorimetry, these same soils were studied using the fumigation method. The results obtained by this last method corroborated the reliability of microcalorimetry to assess microbial growth studies and thus soil health [15, 16].

Other properties

Parallel to the evolution of the microcalorimetric technique, and for a better understanding of the results obtained, new parameters were introduced in our studies. With this purpose, to water-holding capacity determination, C/N ratio, pH, most probable number of microorganisms (MPN), glucose consumption per microbe, sample moisture that were used in our first studies, some other parameters were added. All these parameters when considered together give a more comprehensive understanding of soil behavior before different productive stress processes or pollution, thus allowing a more adequate evaluation of soil potentiality or health state through convenient tables of properties. These parameters such as environmental temperature, soil temperature, chemical elemental composition, apparent and actual densities, plasticity, texture or soil structure [17–19], were considered together with those previously mentioned.

Table 1 shows the most important physical, chemical and biological characteristics corresponding to soil 1.

All the parameters necessary for our study were recorded in a special form designed for this kind of re-

search. The following data recorded in this form must be pointed out:

- type and characteristics of the vegetation existing in the zone
- orientation, topography and slope of the sampling zone
- surface description of the soil sampling zone and surroundings, stone presence, surface water presence, springs presence, man activities, apparent structure, etc.
- data and time of sampling, necessary to repeat same time for all samplings
- environmental characteristics of the zone, wind intensity, solar radiation intensity, clouds, etc. These data were corroborated with those supplied by the Spanish National Meteorology Institute
- soil color through Munsell charts, thus to infer particular characteristics of soil and possible problems related with aeration and/or drain in situ

These values were used to construct a bioclimatic diagram of the zone. This diagram is very helpful for the understanding of the influence of climatological parameters on the soil living phase and the soil productive capacity as a function of the vegetative activity of vegetals growing in a particular zone. Figure 2 shows a bioclimatic diagram of the sampling zone. It was constructed using data contained in Table 2 [20, 21].

Analysis of all soil properties as a whole gives a very important partial information about soil present physical state, and can be used as a basic reference for understanding of soil potentiality or health state when the study is complemented through microcalorimetric data.

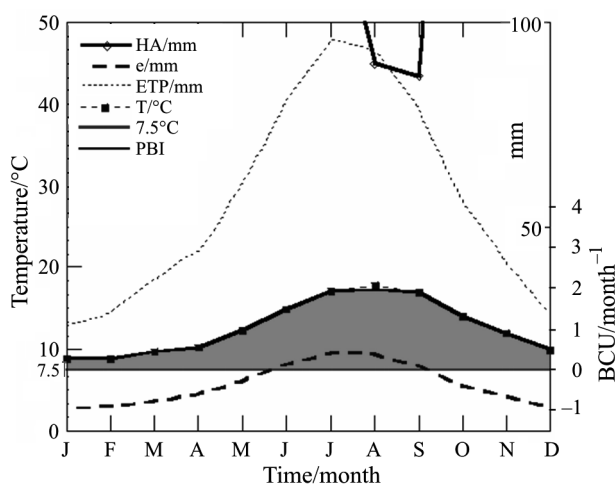


Fig. 2 Bioclimatic diagram of the sampling zone; 7.5 – minimum temperature for vegetal activity, ETP – evapotranspiration in mm, e – residual evapotranspiration in mm, HA – hydric availability in mm and PBI – potential bioclimatic intensity in bcu

Table 1 Physical, chemical and biological properties corresponding to soil 1

	Soil 1			
	spring	summer	autumn	winter
pH	4.3 extremely acid	4.2 extremely acid	4.2 extremely acid	4.5 extremely acid
temperature/°C	14.9	16.2	14.6	11.1
moisture/%	28.9	23.9	22.9	37.4
MPN	$0.130 \cdot 10^8$	$0.018 \cdot 10^8$	$0.035 \cdot 10^8$	$0.035 \cdot 10^8$
texture		sandy loam		
actual density/kg m ⁻³		1490		
apparent density/kg m ⁻³		337, sponger organic type		
residual moisture/%		7.52		
total porosity/%		77.38, excessive		
air porosity/%		65.42		
water porosity/%		11.96		
plasticity index		little plastic, ML-OL (silt organic silt)		
adherence		grain		
proctor/%		30.4		
hydraulic conductivity constant, $K/m s^{-1}$		$8.10 \cdot 10^{-3}$, excessive		
infiltration rate/m s ⁻¹		$0.81 \cdot 10^{-4}$		
C/N		22		
organic matter		extremely rich		
field capacity/%		35.50		
structure		very good		
other characteristics		low depth soil with high slate presence		

In general, analysis of these properties gives information about:

- pH and organic matter content, depend mainly on soil origin [22, 23] and they limit soil productivity because pH values less than 4.5 or greater than 10 are not favorable for soil microorganisms. For this reason, for Galician soils, liming was a traditional treatment that was performed by addition of lime, algae and seafood shells to help agriculture exploitation of soil. It must be taking into account that an extremely acid pH originates solubility of Al and Mn, that are toxic for soil microorganisms, also P precipitates and so Fe or Al phosphates that are not favorable for microbial growing
- temperature is one other limiting factor for soil microbial biomass. Soil acts as a 'thermal absorber' of environmental temperature changes as a consequence of its porosity and structure that create a suitable habitat for microorganisms. For Galician soils the optimum temperature range for microorganisms activity is between 20 and 25°C, temperatures that correspond with the ideal range for soil organic matter decomposition processes and subsequent release of nutrients [24, 25]
- density: actual and apparent densities have a direct influence on the thermal and hydraulic conductions

and on porosity that have an important influence on soil aeration

- structure, compaction index, plasticity, porosity, field capacity, moisture, residual moisture, hydraulic conductivity and infiltration rate, directly related to density, are key for the soil aeration processes, because in zones with high pluviometry can generate flooding anaerobic processes. At the same time, these properties give information for the study of soil erosion susceptibility and the possibility of crust formation
- C/N ratio, organic matter and elemental composition: give an idea about soil potentiality to generate macronutrients to support the sustainable productivity of soil [23, 24]. The most suitable ratio values are in the range from 10 to 15. A lower value is indicative of a poor content in organic matter and the possibility of a seriously damage because of soil mineralization processes. The organic matter content gives information about the capacity of a soil to supply nutrients to the living phase in it for a correct development
- MPN: it is assumed that the higher MPN, the higher the soil potentiality. This property varies as a function of some of the parameters above mentioned, especially temperature, pH and moisture content [26]

Table 2 Main weather properties of the zone where the study was made. The different data were measured in situ and compared with those supplied by the weather station Penedo do Galo, Viveiro, Galicia, NW Spain

	Months					
	January	February	March	April	May	June
<i>MT</i> /°C	8.8	8.8	9.7	10.3	12.3	14.9
rainfall/mm	140	101	85	131	71	63
<i>HA</i> /mm	240	201	185	231	171	163
moisture/%	71.8	66.7	71.0	72.5	74.7	73.2
insolation/%	36.4	39.8	43.9	36.9	44.3	44.7
sun/h	106.2	117.8	162.1	149.1	202.2	205.6
wind/days	9.7	10.5	9.5	7.8	7.6	5.9
<i>ETP</i> /mm	26	29	37	44	61	81
<i>e</i> /mm	5.3	5.9	7.4	8.9	12.2	16.2
<i>IPBI</i> /bcu	0.26	0.26	0.44	0.56	0.96	1.48
	July	August	September	October	November	December
<i>MT</i> /°C	17.2	17.8	16.9	14.0	12.0	9.9
rainfall/mm	49	55	87	142	104	151
<i>HA</i> /mm	131	90	87	204	204	215
moisture/%	73.5	71.4	68.9	71.3	70.6	71.4
insolation/%	47.0	50.3	45.4	39.4	35.4	31.1
sun/h	218.7	217.3	171.2	134.9	103.6	87.3
wind/days	5.0	5.5	5.8	7.8	8.9	9.9
<i>ETP</i> /mm	96	93	79	56	41	28
<i>e</i> /mm	19.1	18.7	15.8	11.1	8.2	5.7
<i>IPBI</i> /bcu	1.94	2.06	1.88	1.30	0.90	0.48
<i>FBI</i> /bcu		1.97				

MT – mean temperature in °C, *ETP* – evapotranspiration in mm, *e* – residual evapotranspiration in mm, *HA* – hydric availability in mm, *PBI* – potential bioclimatic intensity in bcu and *FBI* – free bioclimatic intensity in bcu

Table 3 Characteristic microcalorimetric parameters corresponding to soil 1

Parameters	Soil 1			
	spring	summer	autumn	winter
P_t/h	15.795±0.623 (3.95%)	17.880±0.335 (1.87%)	19.621±0.322 (1.64%)	18.663±0.341 (1.83%)
$P_h/\mu W$	146.015±2.935 (2.01%)	127.443±3.444 (2.70%)	144.031±1.101 (0.76%)	106.911±2.906 (2.72%)
$Q_t/J\ g^{-1}$	829.351±12.970 (1.56%)	805.925±16.992 (2.11%)	885.015±1.878 (0.21%)	730.810±4.980 (0.68%)
μ/h^{-1}	0.1361±0.0021 (1.58%)	0.1252±0.003 (2.41%)	0.0936±0.0020 (2.15%)	0.1040±0.0012 (1.20%)

Peak time (P_t/h) is the time to reach the maximum of the peak, peak height ($P_h/\mu W$) is the power at the maximum of the peak, $Q_t/J\ g^{-1}$ is the total heat evolved up to the maximum of the power–time curve, μ/h^{-1} is the microbial growth rate constant

Results and discussion

Table 3 shows soil 1 mean values of: peak time, P_t (h), peak height, P_h (μW), total heat, Q_t ($J\ g^{-1}$), and the growth rate constant, μ (h^{-1}). Values shown are the mean of 4 experiments carried out on each sample and season. From these values it follows:

- P_t value corresponding to spring is the lowest of the year. This means that P_h is reached faster than in the other seasons. This could be originated by a temperature effect (higher or lower than in spring) that influ-

ence in negative on microbial population growth capacity. P_t shows the highest value in autumn what could be a consequence of this fact. Autumn is the driest season in Galicia, being moisture a parameter with an important influence on microbial growth. This agrees the evolution of μ over the year. The value of μ in spring could be a consequence of the joint influence of temperature and moisture on micro-organisms growth

- this same reasoning could be applied on P_h , because in summer (high) and in winter (low), temperature directly controls soil microbial growth and because of this, P_h shows its maximum value in spring

Table 4 Characteristic microcalorimetric parameters corresponding to soil 2 in autumn

Parameters	Soil 2				
	P_t/h	$P_h/\mu W$	$Q_t/J\ g^{-1}$	μ/h^{-1}	MPN
Autumn	10.7510 ± 2.2509 (0.65%)	71.6523 ± 0.5233 (0.73%)	345.0446 ± 2.2509 (0.65%)	0.0106 ± 0.0004 (3.57%)	$0.007 \cdot 10^8$

Peak time (P_t/h) is the time to reach the maximum of the peak, peak height ($P_h/\mu W$) is the power at the maximum of the peak, $Q_t/J\ g^{-1}$ is the total heat evolved up to the maximum of the power–time curve, μ/h^{-1} is the microbial growth rate constant, MPN – most probable number of microorganisms

- Q_t is maximum in autumn. This could be a consequence of the increase in organic matter originated by the death of the vegetable cover during this season
- MPN is a direct indicator of soil potentiality. The joint analysis of Tables 1 and 2 and Fig. 4 shows that soils with poor microbial load correspond with those generating low heat. As an example, soil 1 MPN in autumn is $0.035 \cdot 10^8$ and generates $885.015\ J\ g^{-1}$, while soil 2 has a MPN of $0.007 \cdot 10^8$ and generates only $345.045\ J\ g^{-1}$

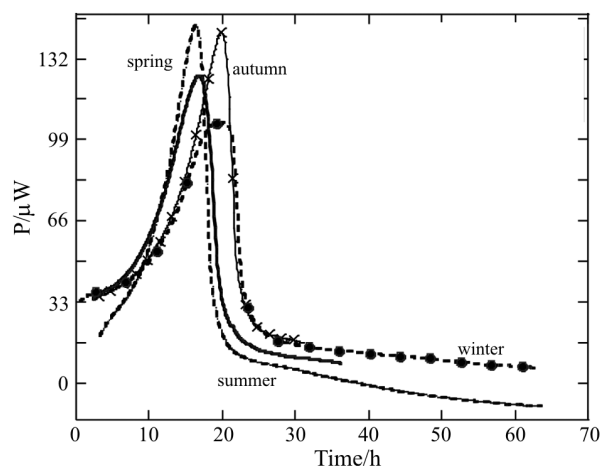
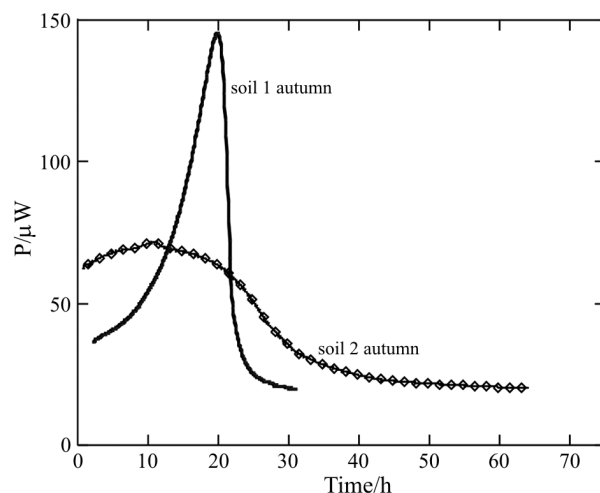
**Fig. 3** P – t curves corresponding to seasonal evolution for soil 1. In this plot the evolution of peak time (P_t) and peak height (P_h) over the year can be followed**Fig. 4** P – t curves corresponding to soils 1 and 2

Figure 3 helps to a better understanding of the data shown in Table 3. In this figure, the year evolution of soil 1 microbial population can be followed through a P – t plot.

Figure 4 allows comparison of soils 1 and 2 through P – t curves corresponding to each of them. The different shape of both curves is related to the different uses of both soils with regard to their agriculture exploitations. This fact makes the shape of the P – t curves to become a very useful tool for studies of soil productivity and state of health [10]. From analysis of data in Table 4, it follows:

- value of μ corresponding to soil 2 is a consequence of the low microbial growth potentiality of this soil (acid and without treatment) compared to values corresponding to soil 1 treated with amendments (fertilizers and lime) to improve forest exploitation. Microbial population is limited by the low pH (4.2). This pH, in rain periods, decreases as a consequence of the dragging of substances originated by degradation of pine leaves situated on the cover surface to a depth of 3 cm
- P_t is reached in a shorter time as a consequence of a lesser microbial load with lesser diversity of microorganisms. Microorganisms in this soil are those perfectly suitable to the environmental conditions, as the soil population was not changed in many years
- both P_h and Q_t are much lower for soil 2. This gives a direct information on soil potentiality because the low generated heat values are related either to low productivities or to soils deteriorated by different phenomena going from pollution to soil over-exploitation, as a direct consequence of a very low microbial load

Conclusions

Microcalorimetry shows as a very reliable method to assess microbial activity in soils. Results obtained by the microcalorimetric method are in very good agreement with those obtained through different physical, chemical and biological tests.

A comparative study of similar soils subjected to different man activities could be the basis for campaigns designed either to recover degraded soils or to avoid soil

degradation. The experimental procedure reported in this work could be very helpful to create a data basis that could be useful to quantify and control soil potentiality for a rational and sustainable exploitation.

The procedure here proposed has been successfully checked using different kinds of soils, both in origin and use, situated in different zones of Galicia. In our opinion, this procedure could be used on any soil everywhere, providing the determination of the own parameters of soil and zones.

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). Part of this research was sponsored by Xunta de Galicia, through different fund projects XUGA20608B98 and PGIDT01MAM20601PR.

References

- 1 B. Chardin, P. Gallice, J. C. Sari and M. Bruschi, *J. Therm. Anal. Cal.*, 70 (2002) 475.
- 2 U. Mortensen, B. Norén and I. Wadsö, *Bull. Ecol. Res. Committee*, 17 (1973) 189.
- 3 K. Ljungholm, B. Norén, R. Sköld and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 15.
- 4 K. Ljungholm, B. Norén and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 24.
- 5 I. Lamprecht, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, London 1980, p. 43.
- 6 I. Barja and L. Núñez, *Soil Biol. Biochem.*, 31 (1999) 441.
- 7 J. P. Belaich, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, New York 1980, p. 1.
- 8 R. Y. Stanier, E. A. Adelberg and J. L. Ingraham, *Microbiología*. Reverté-Repla S. A., Barcelona 1985, p. 262.
- 9 J. K. Mitchell, *Fundamentals of Soil Behaviour*, John Wiley and Sons, Inc., New York 1993.
- 10 L. Núñez-Regueira, O. Núñez-Fernández, J. A. Rodríguez Añón and J. Proupín Castiñeiras, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 123.
- 11 R. G. Petersen and L. D. Calvin, *Methods of Soil Analysis, Part. 1 Physical and Mineralogical Methods*, American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison–Wisconsin 1998, p. 33.
- 12 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *J. Thermal Anal.*, 41 (1994) 1379.
- 13 J. Suurkuusk and I. Wadsö, *Chemistry Scripta*, 20 (1982) 155.
- 14 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *Thermochim. Acta*, 237 (1994) 73.
- 15 J. Wu, P. C. Brookes and D. S. Jenkinson, *Soil Biol. Biochem.*, 28 (1996) 511.
- 16 S. A. M. Critter, S. S. Freitas and C. Airolti, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 145.
- 17 A. Klute, *Methods of Soil Analysis, Part. 1 Physical and Mineralogical Methods*, American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison–Wisconsin 1998, p. 363.
- 18 L. D. Baver, W. H. Gardner and W. R. Gardner, *Soil Physics*, John Wiley and Sons, Inc. New York 1991, p. 78.
- 19 J. Porta, M. López-Acevedo and C. Roquero, *Edafología*, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid 1999, p. 342.
- 20 J. L. Montero de Burgos and J. L. González Rebollar, *Diagramas Bioclimáticos*, Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid 1973.
- 21 Resumo de datos climatolóxicos da rede das estacións do centro de investigacións forestais de Lourizán 1955–1994. Xunta de Galicia-Consellería de Agricultura, Gandería e Montes, Santiago de Compostela 1995.
- 22 W. Smykatz-Kloss, *J. Therm. Anal. Cal.*, 69 (2002) 85.
- 23 D. Grell, E. Grell, P. Bugnon, B. Dietrich and J. M. Lehn, *J. Therm. Anal. Cal.*, 77 (2004) 483.
- 24 V. Ivanova, V. Petkova and Y. Pelovski, *J. Therm. Anal. Cal.*, 74 (2003) 387.
- 25 M. R. Provenzano, *J. Therm. Anal. Cal.*, 61 (2000) 607.
- 26 W. G. Cochran, *Biometrics*, 6 (1950) 105.

Microcalorimetric study of changes in the microbial activity in a humic Cambisol after reforestation with eucalyptus in Galicia (NW Spain)

Lisardo Núñez-Regueira*, José A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras, O. Núñez-Fernández

Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied Physics, Faculty of Physics, University of Santiago de Compostela,
Av. J. M. Suárez Núñez s/n, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Received 6 July 2004; received in revised form 12 April 2005; accepted 14 April 2005

Abstract

The microcalorimetric technique was used to analyse the influence of successive reforestations with *Eucalyptus globulus* Labill, a fast growing species, on the microbial activity in soil. With this aim, samples of similar origin soils, humic-eutrophic Cambisol, were collected from two adjacent land plots. One of the plots, to be taken as the reference, was not subjected to man activities for the last 100 years. The other plot was subjected to two reforestations in the last 20 years. For collection of the two samples, 100 m² homogeneous and perfectly defined zones were chosen in each of the adjacent land plots to obtain final representative bulk samples of 400 g each.

The study was carried out using the microbial population as a bioindicator of the productive potential in soil. The experiments were carried out using 1 g soil samples that were treated with 1.25 mg glucose and stored at 4 °C for 3 months. The analysis was complemented by the determination of physical, chemical, and biological properties and environmental parameters.

The study was performed over 1 year and samples were seasonally collected (spring, summer, autumn and winter) in the same zone situated in Viveiro (Galicia, NW Spain) with the objective of checking the influence of environmental conditions on the microbial activity in the two soils studied.

From the measured results, it can be observed that soils subjected to reforestations suffer not only important changes in physical structure, such as an increase in bulk density, from 600 to 660 kg m⁻³, a reduction in hydraulic conductivity, from 8.85×10^{-3} to 4.4×10^{-3} m s⁻¹, or a decrease in the C-to-N ratio, from 13 to 8, but also they have lower microbial activity, for example 2.84 J g⁻¹ in the reforested soil versus 6.14 J g⁻¹ in the reference soil, in spring, thus presenting a lower productive potential that suggests the use of both amendments and adequate management techniques to ensure a sustainable exploitation, thus avoiding future degradation of soil.

© 2005 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Microcalorimetry; Microbial activity; Fast growing forest species; Reforestations; Fertility

1. Introduction

In this work, the effect of reforestation with fast growing species, in this particular case *Eucalyptus globulus* Labill, on the microbial activity behaviour in soil was studied. This forest species is, from the socioeconomic point of view, very important in Galicia (NW Spain), where it is used traditionally as a raw material for pulp production.

Microbial growth, in a highly heterogeneous medium such as soil (Mortensen et al., 1973; Ljungholm et al.,

1979a; Núñez et al., 1994a; Sparling, 1981; Núñez et al., 1994b), was studied by microcalorimetry (Ljungholm et al., 1979b; Lamprecht, 1980; Yamano et al., 1983; Barja et al., 1999; Belaich, 1980; Forrest, 1972; Barja et al., 1997). This technique was confirmed to be valid as an alternative method in the study of metabolism and microbial growth in soils, as it permits the continuous monitoring of the activity of a living process in situ for a prolonged period without disturbing the system (Ljungholm, et al., 1979a; Forrest, 1972; Payne, 1970; Wadsö, 1980). It is an useful tool for evaluating the metabolism of microbial biomass in soils because the heat produced in the various processes depends solely on the initial and final energy states of the system, and is independent of the type of microorganisms and their form of evolution. Microcalorimetric measurements have generally been made using a closed ampoule

* Corresponding author. Tel./fax: +34 9 81524 350.

E-mail addresses: falisar1@usc.es (L. Núñez-Regueira), falisar1@uscmail.usc.es (L. Núñez-Regueira).

method which causes a decrease in the available O_2 with a corresponding CO_2 enrichment. Consequently, the environmental conditions change inside the closed ampoule. However, this parameter does not affect the calorimetric experiments, as it was reported in a previous paper (Núñez et al., 1994a). The similarity between microcalorimetric results and these obtained using some other traditional technique, such as fumigation, corroborates the validity of the microcalorimetric technique to assess studies on microbial activity in soils (Wu et al., 1996; Critter et al., 2002).

The study presented here follows a three-stage scheme:

1. It is assumed that the soil productive potential directly depends on its living phase.
2. Microorganisms are real bioindicators of soil quality. Soil stress originated by a continuous exploitation reduces both the quantity and the diversity of microorganisms, thus diminishing the soil future richness.
3. Soil living phase evolution, and thus the study of microbial activity in soils, can be quantified by using microcalorimetry (Battley, 1987; Yamano et al., 1986).

The microcalorimetric study can be complemented through a deep analysis of the most important soil physical (temperature, moisture, texture, density, porosity, plasticity index, adherence, hydraulic conductivity constant, structure and field capacity), chemical (O, S, H contents and C-to-N ratio and pH) and biological properties (organic matter content and most probable number of microorganisms or MPN) together with a study of the environmental properties (potential evapotranspiration or ETP, residual evapotranspiration or e , hydric availability or HA, temperature, rainfall, insolation, sun, wind, moisture and different bioclimatic intensities) that have, as it will be seen further on, a strong influence on the aforementioned properties and, thus, on the microbial activity in soil (Núñez-Regueira et al., 2002).

From the ecological point of view, the study of a soil begins with a precise and detailed examination of it as a whole and also of the special characteristics of its surroundings (climate, vegetation, geological substrate, etc.).

2. Material and methods

2.1. Sampling and zone characteristics

An experimental procedure was designed with the objective of analysing the effect of consecutive reforestation with eucalyptus on the microbial activity in soils. The study was carried out on samples collected from two different land plots separated 150 m. In both cases, the soil was a humic-eutrophic Cambisol soil, with a geological substrate consisting of slate and filites, with same origin, identical physical environmental conditions, but subjected to different forest exploitations. Both plots are situated in

Viveiro (Galicia) and their most remarkable characteristic is to be a river bank surrounded by mountains. One of the plots was considered for years as a nature protected space (A) and the other part was subjected to an intensive forest exploitation for the last 20 years (B). The zone has a typical Atlantic-humid climate and the main forest species consist of eucalyptus, most abundant species for the last 30 years, oaks, birchs and other riverside forest species, being the forest surface covered by vegetable litter combined with low bearing herbaceous species, mainly the reference plot (A), that is protected from winds, sunless, close to a river, and plain, that is, without sharp slopes. In this zone, some eucalyptus trees have a diameter greater than 3 m and are more than 40 m tall. The soil is formed mainly by successive horizons of eucalyptus litter (leaves, branches and barks) that are in different decomposition states with an average depth of 1.5 m which constitute a very well defined and developed horizon O followed by an umbric type horizon A. The second plot named as B, sunny and with sharp slope, has a soil that was afforested with eucalyptus twice in the last 20 years. Surface of this plot is practically nude of vegetation and shows an excessive consistency mainly in the topsoil where it forms stratified surface crusts originated by the continuous forest tasks carried out with heavy mechanical means, thus originating an ochric horizon A. No liming treatments were carried out in this zone in the last 20 years, and no anomalous carbonate presence was detected.

To make the study easier, let A_1 be the part of sample of plot A to be used for microcalorimetric experiments and A_2 the part to be used for determination of physical, chemical and biological properties. B_1 and B_2 have the same meaning, but referred to plot B.

The most important physical environmental characteristics of the zone are presented in the form of a bioclimatic diagram (Montero de Burgos et al., 1973) of the zone was designed. This diagram is very helpful for the understanding of the influence of climatological features on the soil living phase and the soil productive capacity as a function of the steady vegetative activity of vegetation growing in this particular zone. In temperate climate, as it is the present case, temperature is the main vegetative control parameter, and because of this the temperature $7.5^\circ C$ is particularly marked, as this is considered as the minimum temperature for steady vegetative productivity in Galicia.

As it was previously mentioned, two different kinds of sample were taken, one for microcalorimetric measurements, and the other for determination of physical, chemical and biological parameters.

For collection of the first sample, 100 m^2 of soil were chosen that then were divided into 1 m^2 sites, six of which were randomly chosen after eliminating those situated in the borders. It is assumed that the sampling experimental procedure described here is sufficiently adequate for considering the samples used in this study as reasonably representative of soils so similar as the two investigated

here. Before collecting samples, the plant litter on each site was removed and then 1 kg of soil was taken from a depth of 5–15 cm. The sample was reduced through a coning and quartering procedure to a final size of about 400 g. By doing so, the sample was highly homogenised, thus allowing to obtain reproducible and representative results (Petersen et al., 1998; Tan, 1996) and showing the diversity and the density of the microorganisms existing in the soil where the sample was collected. The samples were introduced into polyethylene bags, to avoid contamination and loss of moisture and then sent to the laboratory in less than 10 h to avoid loss of moisture and thus keeping field conditions as steady as possible.

To collect the second sample, 10 kg of soil were taken following the procedure previously described.

Data on environmental temperature and moisture were measured during sampling by means of a thermohygrometer, soil temperature at a depth of 15–30 cm using a platinum immersion thermometer, and part of the collected sample was introduced into a 250 cm³ cylinder for determination of the bulk density following a standard procedure to be described subsequently.

All the features necessary for our study were recorded in a special form designed in our laboratory for this kind of research. Among the data recorded in this form it must be pointed out:

1. Type and characteristics of vegetation.
2. Orientation, topography and slope.
3. Surface description of the soil sampling zone and surroundings.
4. Data and time of sampling.
5. Environmental characteristics of the zone.
6. Soil colour.

2.2. Laboratory sample preparation

Once in the laboratory, moisture content of the samples was determined. Each sample was weighed to 0.1 or 1.0 g using a double scaled balance and then heated to constant weight in a natural convection oven at 105–110 °C. The moisture was determined as the weight loss of the sample after treatment in the oven (Gardner, 1998; Lamprecht, 1999).

Samples A₁ and B₁ were sieved using a R72 (mesh size 2×2 mm²) and then placed in hermetically closed polyethylene bags and left in the laboratory at 4 °C (Núñez et al., 1994b) for up to 3 months to ensure reproducibility of measurements before being used for the calorimetric experiments.

2.3. Microcalorimetric experiments

Calorimetric experiments were performed using a microcalorimeter 2277 Thermal Activity Monitor (TAM)

Thermometric AB. Measurements were carried out in hermetically sealed 5 ml stainless steel ampoules. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose (Barja and Núñez, 1999). Experiments were repeated four times. The reference ampoule was filled with 1 ml of distilled water. It was found that the results obtained by doing this agree reasonably well with those obtained using a soil as reference (Núñez et al., 1994a).

2.4. Determination of the physical properties

Physical and chemical properties of the two soils were determined using samples A₂ and B₂. Both were subjected to a procedure identical to that described in Section 2.2. All the experiments were carried out at atmospheric pressure, 20 °C and a relative humidity of 75%.

After sieving, the following determinations were made:

1. Soil pH was determined using a pH-metre. The measurements were performed introducing the electrode in the supernatant solution prepared using 10 g of soil and 25 ml of water. This is the procedure advised by ISSS (Thomas, 1996).
2. Water-holding capacity was determined by using a glass tube fitted with a fritted glass disc in the bottom being immersed in water (Ljungholm et al., 1979a; Cassel et al., 1998) (funnel pore is 3). This datum supplies valuable information about the water retention capacity of a soil at normal conditions. It must be analysed together with infiltration rate, hydraulic conductivity and own moisture to provide a comprehensive understanding of this physical phenomenon.
3. Texture. For the measurement of this soil property, the different fractions (sand, silt and clay) were determined using Boyoucos hydrometer method following ASTM Standard 152 H (Boyoucos, 1962). These values are shown in the texture triangle ISSS/FAO following the standards proposed by the USDA classification scheme (Gee and Bauder, 1998).
4. Actual density was determined by picnometry (Blake et al., 1998).
5. Bulk density was determined, as it was mentioned above, by the cylinder method. This method consists in the introduction of a 6.5 cm diameter and 7.5 cm high cylinder in the soil, taking care of not generating compaction. Later, in the laboratory the cylinder was placed into an oven at 105–110 °C to constant weight to remove all the moisture. Bulk density was then calculated from the dry weight and occupied volume values of the sample. Values of moisture, actual density and bulk density are key for determination of soil porosity and give a clear understanding of soil structure as regard of its consistency.
6. Residual moisture was determined in the laboratory, where the soil was dried first at room temperature

and after placing it into an oven at 105–110 °C to constant weight (Gardner, 1998; Lamprecht, 1999).

7. Porosity (Danielson et al., 1998) was determined from data above reported. Three different porosities must be distinguished: total porosity, aeration porosity and water porosity. These three different porosities give information about the soil capacity for motion of gases and liquids in it. These processes are key for knowing hydric availability and the motion of nutrients to the plants and thus for the knowledge of the productive potentiality of soil.
8. Plasticity index (Blake et al., 1998) was calculated after determination of the soil liquid limit, using the Casagrande Apparatus method (425 μ m BS ASTM 4318 or BS 1377:2) and the soil plastic limit by the Atterberg method, in which the sample is sieved (sieve no. 40 ASTM, mesh 0.1 mm). The soil was classified using the plasticity chart, ASTM-D2487 (Blake et al., 1998). Comparison of the plasticity index with the liquid limit on Casagrande plasticity chart allows certain conclusions to be drawn about strength, compressibility, plasticity and type of soil.
9. Determination of the optimum moisture content (Gardner, 1998) for compactibility, and the maximum degree of dry density. These reflect the behaviour of soil against compactibility and the most suitable moisture determined by the Proctor test BS1377 part. 4, 2.5 kg Rammer method. This result must be considered together with the plasticity index in order to a suitable design of the exploitation methods and also to optimise the mechanisation works in soils as a function of the ideal moisture range for a suitable land work.
10. Adhesivity was determined by the nickel spatula method. This method consists in introducing and landslide a 3.75 cm² surface spatula to quantify the amount of soil stucked per 1 cm². It is very important to analyse the scouring capacity of a soil to mechanical techniques work. It is also an indirect measurement of cohesive, or structural forces, and adhesive, or non-structural forces.
11. Hydraulic conductivity constant and infiltration rate (Klute et al., 1998) were determined using the constant head permeameter, very similar to that designed and used by Darcy and O'Neal. It has a pore 0 and diameter 6 cm funnel following the classification proposed by Landon.

Physical properties, except for pH, temperature and moisture content, were determined once a year. All the physical properties were determined following normalised standards recommended for the particular parameter under study. For this reason, only one measurement was carried out in each case.

2.5. Determination of chemical properties

Elemental composition. Apart from O, H, S determination, the main objective was the determination of organic matter content and the C-to-N ratio. Total nitrogen was determined by Kjeldahl method. The elemental composition was determined in the laboratories of the Elemental Analysis Service of Santiago University. The C-to-N ratio is basic for determination of the mineralisation degree of soil, and the organic matter content gives information about the capacity of a soil to supply nutrients to the living phase in it for a correct development (Knapp et al., 1983).

2.6. Determination of biological properties

Determination of the most probable number of microorganisms (MPN) was carried out using a culture oven Selecta 2002471 following the standard procedure based on the determination of the presence or absence of microorganisms in several individual aliquots of each of several consecutive dilutions of soil or other material (Cochran, 1950).

Biological properties were determined seasonally to analyse their yearly evolution.

3. Results

Table 1 shows environmental features characterising the zone where samples were collected. These values were used to construct a bioclimatic diagram of the zone. This kind of diagram shown in Fig. 1 is basic to analyse the influence of climate on the steady vegetative activity of plants. According to this diagram, climate does not restrict any kind of vegetative production of the forest species existing in the zone. As it can be observed, the vegetative potential of the zones shows its maximum value between June and October. The forest productivity of the zone will go on even if the soil losses nutrients and microbial load, because the climate mildness would compensate the decrease in potentiality of soil.

Table 2 shows values of the physical, chemical, and biological properties mentioned above corresponding to the two zones where samples were collected.

Table 3 shows the most significant results obtained from calorimetric experiments carried out on the samples A₁ and B₁ collected. This table shows mean values of peak time, P_t (h), peak height, P_h (μ W), total heat, Q_t (J g⁻¹), and the growth rate constant, μ (h⁻¹). Values shown are the mean of four experiments carried out on each sample and season.

4. Discussion

4.1. Analysis of physical properties results

Analysis of Table 2 allows the following comments.

Table 1
Main weather properties of the zone where the study was made

	Months											
	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
MT	8.8	8.8	9.7	10.3	12.3	14.9	17.2	17.8	16.9	14.0	12.0	9.9
RF	140	101	85	131	71	63	49	55	87	142	104	151
HA	240	201	185	231	171	163	131	90	87	204	204	215
<i>M</i>	71.8	66.7	71.0	72.5	74.7	73.2	73.5	71.4	68.9	71.3	70.6	71.4
<i>I</i>	36.4	39.8	43.9	36.9	44.3	44.7	47.0	50.3	45.4	39.4	35.4	31.1
<i>S</i>	106.2	117.8	162.1	149.1	202.2	205.6	218.7	217.3	171.2	134.9	103.6	87.3
<i>W</i>	9.7	10.5	9.5	7.8	7.6	5.9	5.0	5.5	5.8	7.8	8.9	9.9
PET	26	29	37	44	61	81	96	93	79	56	41	28
<i>E</i>	5.3	5.9	7.4	8.9	12.2	16.2	19.1	18.7	15.8	11.1	8.2	5.7
PBI	0.26	0.26	0.44	0.56	0.96	1.48	1.94	2.06	1.88	1.30	0.90	0.48
FBI	0.26	0.26	0.44	0.56	0.96	1.48	1.94	1.97	1.88	1.30	0.90	0.48

The different data were measured in situ and compared with those supplied by the weather station Penedo do Galo, Viveiro (Galicia, NW Spain). MT (mean temperature in °C), RF (rainfall in mm), HA (hydric availability in mm), *M* (moisture in %), *I* (insolation in %), *S* (sun in hours year⁻¹), *W* (wind days month⁻¹), PET (potential evapotranspiration in mm), *E* (residual evapotranspiration in mm), PBI (potential bioclimatic intensity in bcu), FBI (free bioclimatic intensity in bcu or bioclimatic intensity that taking place in a period without hydric limitation), and bcu (bioclimatic units).

4.1.1. pH and organic matter content

Galician soils are, in general, acid soils as a consequence of the interaction of many factors such as: mineralogic origin (granites, sandstone, and schist), high content in organic matter, and high hydraulic conductivity. Because of the acid pH, liming was a traditional treatment that was performed by addition of lime, algae and seafood shells to improve the agricultural exploitation of soil. The soil previously named as A is more acid than soil B. One other cause of physical origin, and not only in soil surface, is the enormous capacity of Galician soils for water conduction and also the constant pluviosity of the zone that favour leachate processes. Soil A, in spite of its excessive acid pH, has a high organic load and also a good capacity for water vertical conduction, and because of this, does not restrict microorganisms growing neither at horizon O nor at an umbric type horizon A. The constant acidity, even it favours the growing of bacteria colonies in soil, also favours the subsequent growing of fungi. In the case of soil B, the exhaustion of organic matter, the main source of nutrients, as a consequence of the forest exploitation tasks, the low capacity of this soil for conduction of water and air, and the low acidity, originate an unfavourable environment. It must be taking into account that an extremely acid pH not only originates solubility of Al and Mn, that are toxic for soil microorganisms, but also precipitates P and so Fe or Al phosphates that are not available for microbial growing.

4.1.2. Temperature

The temperature of soil A is more stable than that of soil B, because the organic matter layer (Table 2), an horizon O with a depth of nearly 1.5 m, acts as a 'thermal absorber' of environmental temperature changes as a consequence of soil porosity and structure that create a suitable habitat for mesophyll organisms. In soil B, thermal conduction phenomena are maximised due to

the enormous density generated by the approaching of the particles in solid phase, moreover, the lack of vegetal cover originates a direct contact with the environment changes, thus originating an unfavourable habitat for a regular microorganisms growing during the whole year. Because of this, microbial growth is highly restricted in soil B, as temperature is one of the most important limiting factors.

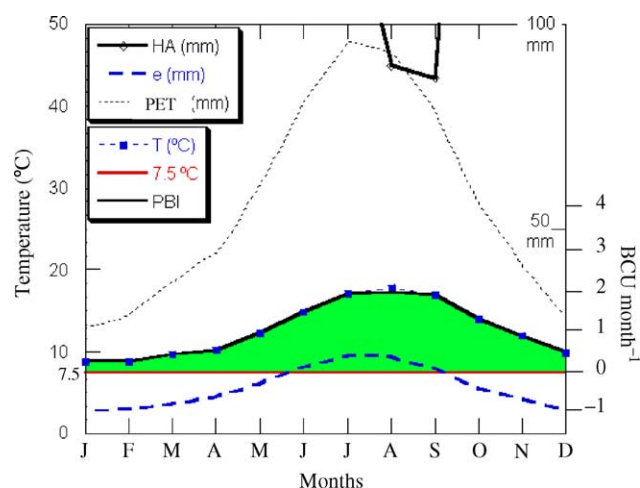


Fig. 1. Bioclimatic diagram of the sampling zone. Temperature (mean monthly environmental temperature, in °C), 7.5 °C (minimum temperature for steady vegetal activity), PET (potential evapotranspiration in mm), *e* (residual evapotranspiration in mm), HA (hydric availability in mm), and PBI (potential bioclimatic intensity in bcu), BCU (bioclimatic units month⁻¹ or product of 5 °C per month, that is, using a scale in which 1 cm in the ordinate axis represent 5 °C and in the x-axis 1 month, being the surface exactly 1 cm²). The x-axis is labelled as months. The filled area corresponds with the productive potentiality of the vegetable biomass of the zone over 1 year. The maximum steady vegetative activity originated by climate in a natural environment can be determined from the area limited by the curve corresponds to the mean monthly temperatures and 7.5 °C line, and it is called the potential bioclimatic intensity.

Table 2

Physical, chemical and biological properties corresponding to soils A and B

	Spring		Summer		Autumn		Winter	
	Soil A	Soil B	Soil A	Soil B	Soil A	Soil B	Soil A	Soil B
pH	4.3-EA	5.0-VSA	4.8-VSA	5.1-VSA	5.3-SA	4.9-VSA	4.2-EA	4.9-VSA
<i>T</i>	12.3	11.8	17.2	17.0	15.2	14.4	11.8	10.8
<i>M</i>	14.2	20.5	10.3	23.8	10.8	20.3	24.9	18.9
MPN	4.00×10^8	0.23×10^8	7.00×10^8	0.33×10^8	4.70×10^8	0.40×10^8	1.70×10^8	0.13×10^8
Other physico-chemical properties								
	Soil A				Soil B			
Texture	Sandy loam				Loam			
Actual density (kg m^{-3})	1520				1960			
Bulk density (kg m^{-3})	600 (sponge organic type)				662 (spongy)			
Residual moisture (%)	6.67				2.75			
Total porosity (%)	60.53 (excessive)				66.22 (excessive)			
Air porosity (%)	6.40				49.86			
Water porosity (%)	54.13				16.36			
Plasticity index	2.25, Little plastic ML-OL				2.84, Little plastic ML-OL			
Adherence (kg m^{-2})	0.5–1.5 (grain)				0.5–1.5 (grain)			
Proctor (%)	31.1				18.1			
<i>K</i> (m s^{-1})	8.85×10^{-3} (excessive)				4.4×10^{-3} (excessive)			
Infiltration rate (m s^{-1})	1.77×10^{-4}				8.8×10^{-5}			
C-to-N ratio	13				8			
Organic matter content (%)	4.4 (extremely rich)				0.5 (extremely poor)			
Field capacity (%)	16.46				24.72			
Structure	Very good				Very poor			

T (temperature in °C), *M* (moisture in %), MPN (most probable number of microorganisms in μg^{-1}), ML-OL (silt organic silt), EA (extremely acid), VSA (very strongly acid), SA (strongly acid), *K* (hydraulic conductivity constant). Values of pH, *T*, *M* and MPN were calculated for each sampling, because they depend on climatic conditions that change over the year. The other properties were determined only once because they remain steady over the year providing the soil was not subjected to strong man activities.

4.1.3. Density

Actual and bulk densities of soil B are greater than those of soil A, as a consequence of the mechanisation work carried out in soil B for the maintenance of the forest exploitation through silviculture. However, soil B values are not high enough to restrict microbial activity. The high values of soil B densities have a direct influence on the thermal and hydraulic conductions and on the porosity that have an important influence on soil aeration.

4.1.4. Field capacity, moisture, residual moisture, hydraulic conductivity and infiltration rate

Owing to its water conduction capacity and low actual and bulk densities that originate a very fast water vertical motion, the field capacity of soil A is lower than that of soil B. This does not affect to the water availability of soil A, since organic matter absorbs water enough to maintain a significant biological activity. In the case of soil B, at certain times, flooding and anoxia can originate adverse effects on

Table 3

Characteristic microcalorimetric parameters corresponding to soils A and B

	Spring	Summer	Autumn	Winter
<i>Sample A₁</i>				
<i>P_t</i> (h)	89.21 ± 4.07 (4.56%)	209.61 ± 4.49 (2.14%)	175.75 ± 1.77 (1.01%)	67.29 ± 0.30 (0.44%)
<i>P_h</i> (μW)	19.94 ± 0.87 (4.36%)	19.95 ± 0.78 (3.89%)	21.09 ± 0.92 (4.35%)	30.86 ± 1.40 (4.54%)
<i>Q_t</i> (J g^{-1})	6.14 ± 0.23 (3.77%)	6.85 ± 0.02 (0.27%)	6.32 ± 0.21 (3.26%)	4.84 ± 0.06 (1.27%)
μ (h^{-1})	0.0541 ± 0.001 (1.82%)	0.0017 ± 0.0001 (2.74%)	0.00120 ± 0.00001 (1.09%)	0.0117 ± 0.0003 (2.57%)
<i>Sample B₁</i>				
<i>P_t</i> (h)	38.42 ± 0.34 (0.87%)	35.26 ± 0.46 (1.31%)	34.08 ± 0.35 (1.04%)	56.92 ± 0.94 (1.66%)
<i>P_h</i> (μW)	14.93 ± 0.50 (3.36%)	18.79 ± 0.62 (3.31%)	21.57 ± 0.95 (4.39%)	13.51 ± 0.45 (3.31%)
<i>Q_t</i> (J g^{-1})	2.84 ± 0.06 (1.99%)	2.90 ± 0.03 (1.01%)	3.29 ± 0.15 (4.65%)	2.76 ± 0.09 (3.16%)
μ (h^{-1})	0.0220 ± 0.0008 (3.44%)	0.0231 ± 0.0005 (2.00%)	0.0256 ± 0.0010 (3.97%)	0.0214 ± 0.0008 (3.54%)

Mean values are calculated from four microcalorimetric experiments in each case. The final result is 2.895 ± 0.029 (1.01%), where 2.895 is the mean value calculated from four microcalorimetric experiments, ± 0.029 is the standard deviation, and 1.01% is the percentage error. Peak time, *P_t* (h), is the time to reach the maximum of the peak, Peak height, *P_h* (μW), is the power at the maximum of the peak, *Q_t* (J g^{-1}), is the total heat evolved up to the maximum of the Power–time curve and μ (h^{-1}) is the microbial growth rate constant.

microbial growing and on microbial activity because of formation of surface and subsurface compact layers that restrict drainage. This same reasoning applies to analysis of own moisture and residual moisture of soils A and B. Soil B shows a more stable moisture content due to compaction phenomena originated by man activities that not only have an adverse effect on soil activity, but also originate flooding and aeration problems during the rainy seasons.

4.1.5. Porosity

Porosity is good, but for soil A water porosity is high, which means a greater amount of macropores thus originating an improvement in water and air transport processes. In the case of soil B, air porosity is the most important contribution. In none of the cases porosity represents a restriction to microbial activity. However, in the case of soil B the formation of surface and subsurface layers restrict the vertical conduction of water thus favouring runoff and erosion (Shainberg et al., 1996). Because of this, soil B must be protected from hydric erosion (Grissinger et al., 1996).

4.1.6. Plasticity

Owing to its mineral composition, soil B is much more plastic than soil A. Even so, both soils are classified as ML-OL (Gee, 1998). The low plastic capacity favours soil restructuring after deformation by mechanisation tasks. For both soils, sand-to-clay ratio is very high, thus making plastic capacity difficult and, because of this, their capacity to stick strange objects is low. In the case of soil B, this low adherence favours the scouring, or autocleaning of farming implements. Cohesive phenomena are more significant for both soils than adhesive phenomena.

4.1.7. Compaction index

Soil B needs a lower moisture content to reach the dry density degree, that is, the best compaction degree and for this reason is easier to compact. Because of this, soil B suffers hard setting processes when subjected to works originated from silviculture tasks.

4.1.8. Structure

Soil A structure is better than that of soil B, as its horizon O is actually 'alive' because of its depth, porosity and different degrees of decomposition of organic matter. Soil B shows a surface transition horizon with a compact layer having low organic matter content and suffering seasonal floodings. With respect to soil A, the eucalyptus residues constitute an allochthonous constituent, as this forest species was brought to Galicia from Australia only 150 years ago. This forest species is strange for microorganisms living in Galician soil and because of this, the biodegradation period is slower than the period corresponding to soil zones covered with tree species conforming the traditional Galician Atlantic humid forest. This originates an

accumulation of residues, mainly leaves, thus forming a particular and thick horizon O.

4.2. Analysis of chemical properties results

4.2.1. C-to-N ratio

For continuous microbial growth in soils, this value should be in the range from 10 to 15. Values recorded in Table 2 show that soil A presents a value (13) within this range while soil B value (8) is outside the recommended range and should be corrected to avoid mineralisation processes that would damage seriously the possibility of microbial growing. For this reason, amendment by addition of organic matter is recommended to improve soil B agricultural production and to avoid soil mineralisation.

4.3. Analysis of biological properties results

4.3.1. MPN

This number is higher for soil A and because of this, it is assumed a higher potential for this soil. The lower MPN of soil B could be due to the 'productive stress' at which this soil is subjected, thus reducing its living phase and originating low productivity at first and a loss of fertility at the end. It can also be seen that in winter, because of the low environmental temperatures, MPN for soil B decreases. However, the increase in temperature in the subsequent season does not increase the MPN value that is also restricted by high temperatures. For Galician soils, the optimum temperature for microbial activity is in the range from 20 to 25 °C.

Soils subjected to bad exploitation lose productive capacity due to a reduction in MPN. In our case, several reforestations carried out in short times using a fast growing species, *E. globulus* Labill, without a rational amendment of soil could give rise to an irreversible loss of productive land.

4.4. Analysis of results obtained from microcalorimetric experiments

To confirm previous analysis and assumptions, a microcalorimetric study on both soils was carried out. From the results, it follows:

1. Q_t is much greater for soil A. This indicates that this soil has a greater activity than soil B. Also the microorganisms community in the first habitat is more stable. Because of this, potential in A should be greater than in B. The lower value in Q_t indicates that the nutrient exhaustion and changes in physical properties in soil B originated a loss of microorganisms both in quantity and quality. The loss of quality is understood as the loss of microorganisms others than bacteria.
2. For soil A, P_t is higher than for soil B. This can be originated by the fact that MPN is greater for soil A, and because of this, the life cycle is greater and more

complex because it contains more types of interrelated microorganisms: bacteria, fungi, actinomycetes, algae, protozoa overlapping Q_t of each of the groups as a consequence of the multiple cooperative and competitive interaction among the different microorganism populations. From other point of view, the high diversity of species ensures a great potential and soil resilience capacity to degradation processes.

3. Values of P_h are similar for soils A and B in summer and autumn, but have higher values for soil A in winter and spring. This is a logical consequence of the fast growing of bacteria due to their enormous diversity and metabolic potential as initiators of decomposition processes of different substrata both in aerobic and anaerobic conditions. Assuming same type of bacteria in both soils, values of P_h after addition of a carbon source

(glucose) should be very similar for both soils. The existence of some other group of microorganisms in A makes this soil to have greater P_t and Q_t .

4. Values of microbial growth rate constants do not give special information as many variables have an influence on it. Even so, soil A has lower values possibly due to its potential and the complexity of the medium. The value of μ in soil B shows very stable. This can be due to the fact that its physical, chemical and biological properties restrict the presence of elements different from bacteria.

The results reported here allow to consider microcalorimetry as a very reliable method to assess microbial activity in soils. The results obtained by the microcalorimetric method are in very good agreement with those obtained through different physical, chemical and biological tests (Baver et al., 1991; Mitchell, 1993).

Fig. 2(a) is a P - t plot showing the seasonal evolution of soil A. It can be observed that the curves become sharper from spring to winter with a shoulder before P_h . This is possibly due to the action of temperature as a limiting factor because, as it is known, bacteria have greater biological action than all the other microorganisms and, because of this, they show a faster response before the addition of a carbon source. Moreover, all the other microorganisms could be in latent state and do not react as fast (Q_t greater than in the rest of the year). Shape of Fig. 2(b) is very similar over the year thus reaffirming the limited diversity of microbial population species in soil B. This figure shows a peak and a more or less lengthy shoulder. This could be due

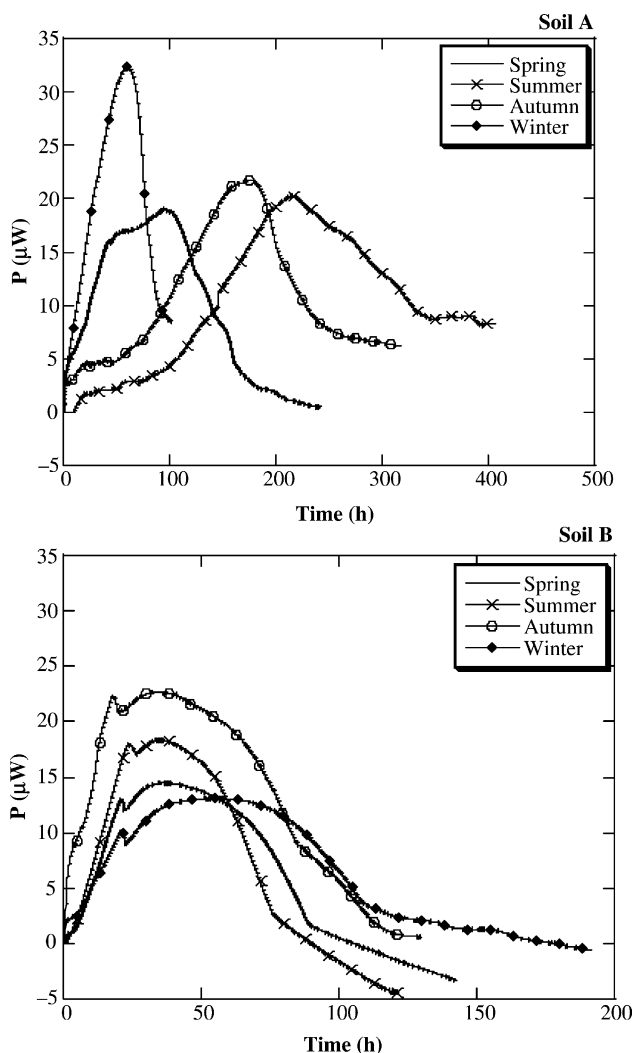


Fig. 2. P - t curves corresponding to seasonal evolution for soils A and B. In these curves thermal power (μW) is plotted against time (h). Integration of these curves provides values of the total heat evolved during the process. In this plot the evolution of Peak time (P_t) is the time to reach the maximum of the peak, and Peak height (P_h) is the power at the maximum of the peak, over the year can be followed.

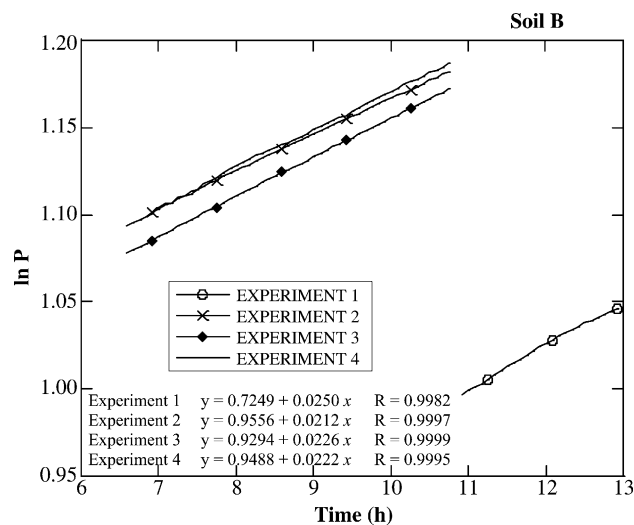


Fig. 3. This graph corresponds to a plot of experimental data ($\ln P$ versus t) corresponding to the exponential microbial growth in soil B in spring, where in P is the logarithm of thermal power and t is the time. These data were obtained from four experiments. Values of correlation indexes corresponding to different experiments carried out on soil B. The R results shown here correspond to samples collected in spring; similar results were obtained for all seasons and for the other soil studied. Values of R were calculated from plots in which all the experimental points corresponding to the exponential microbial growth phase were represented. In the case of soil B, owing to the short exponential phase, the number of point was about 50.

to the existence of a greater quantity of heterotrophic than autotrophic organisms. These heterotrophic organisms could need the growing of autotrophic ones before starting their life cycle, what is known as an autotrophic–heterotrophic overlapped succession that could be understood as an acclimatisation to low favourable conditions in poor soils with limited sources of essential nutrients, a typical behaviour of low favourable habitats with low microbial population density and predominance of cooperative interactions. The greater length and less P_h of the shoulders appearing after the peak, especially in the winter season, might represent a higher slowness of the soil living phase to react under sudden favourable stimulus as those inside the microcalorimeter: 25 °C and an extra carbon source (glucose), as indicated by P_t values (P_h and Q_t have similar values) (Fig. 3).

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). Part of this research was sponsored by Xunta de Galicia through fund projects.

References

- Barja, I., Núñez, L., 1999. Microcalorimetric measurements of the influence of glucose concentration on microbial activity in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 441–447.
- Barja, M.I., Proupín, J., Núñez, L., 1997. Microcalorimetric study of the effect of temperature on microbial activity in soils. *Thermochimica Acta* 303, 155–159.
- Battley, E.H., 1987. *Energetics of Microbial Growth*. Wiley, New York, pp. 252–286, see also 360–418.
- Baver, L.D., Gardner, W.H., Gardner, W.R., 1991. *Física de suelos*. Grupo Noriega Editores, México.
- Belaich, J.P., 1980. Growth and metabolism in bacteria. In: Beezer, A.E. (Ed.), *Biological Microcalorimetry*. Academic Press, New York, pp. 1–42.
- Blake, G.R., Hartge, K.H., 1998a. Bulk density. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 363–375.
- Blake, G.R., Hartge, K.H., 1998b. Particle density. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 377–382.
- Boyucos, G.I., 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis soils. *Agronomy Journal* 54, 623–627.
- Cassel, D.K., Nielsen, D.R., 1998. Field capacity and available water capacity. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 901–926.
- Cochran, W.G., 1950. Estimation of bacterial densities by means of the most probable number. *Biometrics* 6, 105–115.
- Critter, S.A.M., Freitas, S.S., Airolidi, C., 2002. Microbial biomass and microcalorimetric methods in tropical soils. *Thermochimica Acta* 394, 145–154.
- Danielson, R.E., Sutherland, P.L., 1998. Porosity. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 443–461.
- Forrest, W.W., 1972. Microcalorimetry. In: Norris, J.R. (Ed.), *Methods in Microbiology*. Academic Press, London, pp. 285–318.
- Gardner, W.H., 1998. Water content. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 493–544.
- Gee, G.W., Bauder, J.W., 1998. Particle-size analysis. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 383–411.
- Grissinger, E.H., Oster, J.D., Shainberg, I., Abrol, P., 1996. Part III: soil rehabilitation. In: Agassi, M. (Ed.), *Soil Erosion, Conservation, and Rehabilitation*. Marcel Dekker, New York, pp. 239–263.
- Klute, A., Dirksen, C., 1998. Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 687–734.
- Knapp, E.B., Elliot, L.F., Campbell, G.S., 1983. Carbon, nitrogen and microbial biomass interrelationship during decomposition of wheat straw: a mechanist simulation model. *Soil Biology & Biochemistry* 15, 455–461.
- Lamprecht, I., 1980. Growth and metabolism in yeasts. In: Beezer, A.E. (Ed.), *Biological Microcalorimetry*. Academic Press, London, pp. 43–112.
- Lamprecht, I., 1999. Combustion calorimetry. In: Kemp, R.B. (Ed.), *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry*. Elsevier, Amsterdam, pp. 175–218.
- Ljungholm, K., Norén, B., Sköld, R., Wadsö, I., 1979a. Use of microcalorimetry for the characterization of microbial activity in soil. *Oikos* 33, 15–23.
- Ljungholm, K., Norén, B., Wadsö, I., 1979b. Microcalorimetric observations of microbial activity in normal and acidified soils. *Oikos* 33, 24–30.
- Mitchell, J.K., 1993. *Fundamentals of Soil Behaviour*. Wiley, New York.
- Montero de Burgos, J.L., González Rebollar, J.L., 1973. *Diagramas Bioclimáticos*. Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid.
- Mortensen, U., Norén, B., Wadsö, I., 1973. Microcalorimetry in the study of the activity of microorganisms. *Bulletins from the Ecological Research Committee (Stockholm)* 17, 189–197.
- Núñez, L., Barros, N., Barja, I., 1994a. A kinetic analysis of the degradation of glucose by soil microorganisms studied by microcalorimetry. *Thermochimica Acta* 237, 73–81.
- Núñez, L., Barros, N., Barja, I., 1994b. Effect of storage of soil at 4 °C on the microbial activity studied by microcalorimetry. *Journal of Thermal Analysis* 41, 1379–1383.
- Núñez-Regueira, L., Núñez-Fernández, O., Rodríguez Anón, J.A., Proupín Castiñeiras, J., 2002. The influence of some physicochemical parameters on the microbial growth in soils. *Thermochimica Acta* 394, 123–131.
- Payne, W.J., 1970. Energy yields and growth of heterotrophs. *Annual Review of Microbiology* 24, 17–52.
- Petersen, R.G., Calvin, L.D., 1998. Sampling. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, second ed. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 33–51.
- Shainberg, I., Levy, G.J., Morin, J., Le Bissonnais, Y., Bradford, J.M., Huang, C., Torri, D., Box, J.E., Russell Bruce, R., Prasad, P., Grissinger, E.H., Renard, K.G., Foster, G.R., Lane, L.J., Laflen, J.M., Stone, J., Renard, K.G., Lane, L.J., 1996. Part I: soil erosion by water. In: Agassi, M. (Ed.), *Soil Erosion, Conservation, and Rehabilitation*. Marcel Dekker, New York, pp. 1–199.

- Sparling, G.P., 1981. Microcalorimetry and other methods to assess biomass and activity in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 13, 93–98.
- Tan, K.H., 1996. *Soil Sampling, Preparation, and Analysis*. Marcel Dekker, New York.
- Thomas, G.W., 1996. Soil pH and soil acidity. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 3 Chemical Methods*. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp. 475–490.
- Wadsö, I., 1980. Some problems in calorimetric measurements on cellular systems. In: Beezer, A.E. (Ed.), *Biological Microcalorimetry*. Academic Press, London, pp. 247–274.
- Wu, J., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1996. Evidence for the use of a control in the fumigation-incubation method for measuring microbial biomass carbon in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 511–518.
- Yamano, H., Takahashi, K., 1983. Temperature effect on the activity of soil microbes measured from heat evolution during the degradation of several carbon sources. *Agricultural and Biology and Chemistry* 47, 1493–1499.
- Yamano, H., Takahashi, K., 1986. Computer simulation of growth thermograms observed for microbial cultures in a batch calorimeter. *Agricultural and Biology and Chemistry* 50, 3145–3155.



STUDY OF THE INFLUENCE OF DIFFERENT FOREST SPECIES ON THE MICROBIAL ACTIVITY IN SOILS

Lisardo Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón*, J. Proupín-Castiñeiras, Maria Villanueva-López and O. Núñez-Fernández

Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied Physics, Faculty of Physics, Av. J. M. Suárez Núñez s/n., University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Microcalorimetry was used to study the seasonal evolution over one year of the microbial activity in a humic-eutrophic Cambisol soil as a function of its forest cover. The study was carried out on three soils with identical origin but covered with different forest species: pine, eucalyptus, and a typical Atlantic-humid riverside forest.

Some other physical, chemical and biological properties and environmental parameters, mainly humidity and environmental temperature, were considered to analyze their influence on soil microbial activity.

The study was performed using a microcalorimeter Thermal Analysis Monitor 2277 in which the experiments were carried out with 1 g soil samples treated with 1.25 mg glucose g⁻¹ soil. From the measured results it follows that pine forest soil is the least productive of the three, as it generates an average heat of 2.7 vs. 5.9 J g⁻¹ generated by the eucalyptus forest soil and 3.1 J g⁻¹ generated by the riverside forest soil. These results are dependent on the remaining physical, chemical and biological features analysed and because of this, pine forest soil, with a pH value 3.3 in spring, shows a small capacity to maintain a stable microbial population which is the lowest of the three (0.079·10⁸ to 0.46·10⁸ microorganisms g⁻¹ soil) while riverside soil microbial population is in the range from 7.9·10⁸ to 17·10⁸ microorganisms g⁻¹ soil.

Keywords: forest cover, microbial activity, microcalorimetry, rational and sustainable exploitation

Introduction

In the last 10 years, the European Union (EU) has elaborated many environmental plans focused on the protection and maintenance of the environment under the premises of a rational and sustainable development as a basis for the preservation of the current-technological society. The protection of soil and its resources is one of the priority tasks of the present world welfare society as it is the point of convergence of energy, agricultural, environmental, economical and social policies. Soil is not only a physical mean in which our communities build houses, but also the direct or indirect origin of most part of the products used in our daily diet, and also a highly complex system for storage and purification of water [1].

In this article, a study of the influence of different forest formations on soil quality is made. Soil quality is understood as the convergence of physical, chemical and biological features that have influence on its productivity as a consequence of the use at which is subjected under the action of climatic and environmental conditions.

The study is focused on the effect of three forest formations on a soil using microcalorimetry as the ex-

perimental technique and microbial growth as a bioindicator of soil quality [2–8]. With this purpose, a zone where the three forest formations grow, situated in Viveiro (Galicia, NW Spain), was chosen. The soil in the whole zone has a common origin, humic-eutrophic Cambisol, and it is subjected to similar climatic conditions.

- Soil 1. An area covered by eucalyptus, mainly *E. globulus* Labill. The soil was not subjected to silviculture tasks during the last 100 years. Eucalyptus is a fast growing species and is extremely aggressive against soils mainly at first stages of growing as it extracts huge amounts of nutrients and water.
- Soil 2. An area covered by pines, with a stable forest biomass for the last 60 years. This forest species, *P. pinaster* Aiton, generates forest residues that on degradation produce great amounts of different acidic matters that constrict the growth of any other forest species.
- Soil 3. An area having a typical Atlantic-humid climate forest, where the main forest species consist of eucalyptus (most abundant species for the last 30 years), oaks, birchs and other riverside forest species, being the forest surface covered by vegetal litter combined with low habit herbaceous species.

* Author for correspondence: faliber@usc.es

The experimental procedure here proposed is based on the following assumptions [9]:

- Soil productivity directly depends on main features that are common to every kind of soil: a) physical fertility; that is, the capacity to supply plants the necessary nutrients in the adequate form, proportion and time, b) own fertility, or the supply of the water, oxygen and heat necessary for vegetal growth, c) living phase in soil, who is the final responsible for soil productive potential.
- Microorganisms are real bioindicators of soil quality. Soil stress originated by a continuous exploitation reduces both the quantity and the diversity of microorganisms, thus diminishing the soil future richness.
- Soil living phase evolution, and thus the study of microbial activity in soils, can be quantified by using microcalorimetry.

On the assumptions that soil quality depends on physical, chemical and biological features and also on the environmental conditions, this study can be complemented through a deep analysis of soil physical (texture, structure, porosity and plasticity), chemical (pH, elementary composition, and C to N ratio) and biological properties (MPN or organic matter content) together with a study of the environmental properties (climate, vegetation and geological substrate) that have a strong influence on the aforementioned properties and, thus on the microbial activity in soil [10–12]. All the results calculated from different tests must be analysed together in order to obtain a real knowledge of the global soil behaviour.

Experimental

Materials and methods

For a better understanding, this study was divided into three very well differentiated parts: sampling phase, microcalorimetric study, and analysis of physical, chemical, biological and climatic environmental properties.

Sampling phase

To obtain a thorough knowledge of the evolution over the year of microbial activity in soils subjected to a highly changeable weather, as it happens in Galicia (NW Spain), samples were collected in four different seasonal periods.

The study begins by the choice of a zone having common geological substratum, humic-eutrophic Cambisol, subjected to similar climatic conditions. This choice pretends to establish a stable starting point that allows to consider the actions of forest formations as the only responsible of changes in soil behaviour. Three different land plots, 200 m far from each other,

covered, as it was previously mentioned, by eucalyptus [8], pine trees and a riverside forest, were chosen. Each of the zones cover a minimum of 5000 m². Within each of the land plots, a sampling zone of 100 m² was taken, that were divided according to statistical criteria in 1 m² sites, being the samples collected from these sites. After the removal of the very top layer of soil, samples were collected to a depth of about 15 cm. All samples from one site were mixed and sieved. The sample was then reduced through a coning and quartering procedure. By doing so, the sample was highly homogenized, thus allowing to obtain reproducible and representative results [13] and showing the diversity and the density of the microorganisms existing in the environment where the sample was collected. The samples were introduced into polyethylene bags, to avoid contamination and loss of moisture, and then sent to the laboratory in less than 10 h. Using the experimental procedure here described, two different kinds of samples were taken, one for microcalorimetric measurements (400 g), named sample 1, and the other (10 kg) for determination of physical, chemical and biological features, named sample 2.

During the sampling stage, some environmental features such as: soil temperature, environment temperature and moisture content were measured, and also the whole zone was described: topography, vegetation, etc. and the soil apparent density was determined.

Calorimetric phase

Once in the laboratory, the moisture content was determined as the mass loss after drying of the sample in a Selecta 200210 natural desiccating oven, at 105°C, to constant mass [14]. The samples were also left to dry at a room stable temperature of 20°C, to determine residual moisture following the procedure previously described. Samples were sieved using a R72 (mesh size 2×2 mm²) and the one to be used for calorimetric experiments, sample 1, of about 400 g, was placed in hermetically closed polyethylene bags and left in the laboratory, at 4°C, for up to 3 months [15] to ensure reproducibility of calorimetric measurements. The remaining sample, sample 2, of about 10 kg was used for determination of physical, chemical and biological features. After that time, calorimetric experiments were performed using a microcalorimeter 2277 Thermal Activity Monitor (TAM) Thermometric AB [16]. Measurements were carried out in hermetically sealed 5 mL stainless steel ampoules. This closed ampoule method causes a decrease in the available O₂ with a corresponding CO₂ enrichment [17]. Consequently, the environmental conditions inside the closed ampoule change. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose g⁻¹ soil. This glucose concentration value was determined after

trying different concentrations [6]. Each experiment was repeated four times. The reference ampoule was filled with 1 mL of distilled water. It was found that the results obtained by doing this agree reasonably with those obtained using a soil as reference. Calorimetric results showing soil behaviour were reported in the form of power–time curves [8, 11, 12].

Other properties

This section includes all the normalized tests [8] used for determination of soil physical, chemical and biological properties as well as bioclimatic determination that are presented in the form of bioclimatic diagrams, Fig. 1 [18, 19]. These diagrams are very helpful for the understanding of the influence of climatological parameters on both the soil living phase and the soil productive capacity as a function of the vegetative activity of the vegetals growing in a particular zone. The different tests comprise:

- Physical properties: water-holding capacity determination, porosity, hydraulic conductivity, structure, texture, actual density, plasticity, adhesivity and optimum humidity content for compaction.
- Chemical properties: elemental composition, C to N ratio and pH.

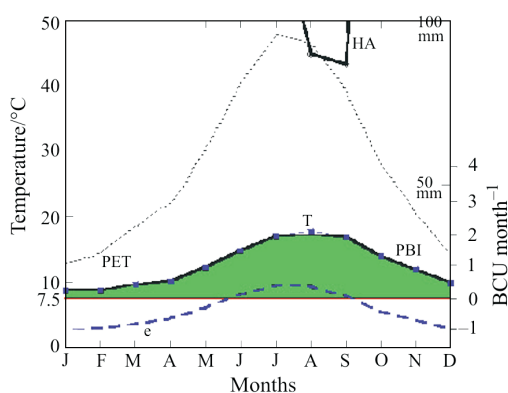


Fig. 1 Bioclimatic diagram [8, 18, 19] of the sampling zone

- Biological properties: MPN and organic matter content.

All the experiments were carried out at atmospheric pressure, 20°C and a relative humidity of 75%. All properties, except for pH, temperature and moisture content, were determined once a year.

Analysis of all soil properties as a whole gives a very important partial information about soil current physical state, and can be used as a basic reference for understanding of soil potentiality, or health state, when the study is complemented through microcalorimetric data.

Results and discussion

Table 1 records values of physical, chemical and biological properties of the three soils studied. From these values, the productive potential in soils can be estimated:

- The soil covered by pine forest shows a low pH [20, 21] over the whole year, mainly in spring. This very acid pH originates very unfavourable conditions for microorganisms developing and, except for Fe, the assimilation of the elements that plants need for growing (Cu, Zn, B, Mn, K, Mg, Mo, Ca, P and S) is very poor or none. Despite Galician soils are, in general, acid soils as a consequence of the interaction of many factors such as: mineralogic origin (granites, sandstone, and schist), high content in organic matter, and high hydraulic conductivity, soil 2 shows an extra cause for pH lowering and that is the formation of acidifying substances during the degradation of forest residues generated from pine trees. The remaining soils, eucalyptus and riverside forest cover, even they are strongly acid with a pH mean value of 5.0, allow a better development of microorganisms thus showing greater MPN values and because of this a greater microbial activity and also a greater productive potential.
- Both structure and texture of the three soils are very good with a very good thermal stability over the year with a mean temperature of 14°C. For this reason, temperature that is, together with moisture content and pH, one of the basic features for a correct microbial activity is not a limiting factor for any of the three soils.
- Soil moisture content should be analyzed together with water-holding capacity, hydraulic conductivity, and porosity in order to understand its importance. At first, moisture content is high in soils with low hydraulic conductivity and high water-holding capacity. It could seem strange that the soil occupied by eucalyptus forest with a porosity of 60.5% presents a conductivity of $8.9 \cdot 10^{-3} \text{ m s}^{-1}$, while pine and riverside forest soils with porosities of 77.4 and 67.5% present hydraulic conductivities of $4.1 \cdot 10^{-3}$ and $5.3 \cdot 10^{-3} \text{ m s}^{-1}$ respectively, both lower than the eucalyptus one. This can be explained considering that this last soil has a surface horizon 1.5 m deep formed by forest residues in different phases of degradation. Moreover, this soil is highly hydrophobic and generates a very efficient conductivity.
- Values of real density are very similar, around 1600 kg m^{-3} , for the three soils as a consequence of their common origin. However, pine species generate a strong acid attack (chemical weathering) on soil, originating a fast degradation that makes soil more spongy. Because of this, pine forest soil has an apparent density of 300 kg m^{-3} , while eucalypt-

Table 1 Physical, chemical and biological properties corresponding to soils 1, 2 and 3

	Soil	Spring	Summer	Autumn	Winter
pH	1	4.3	4.8	5.3	4.2
	2	3.3	4.2	4.2	4.6
	3	5.1	5.7	5.6	5.0
Temperature/°C	1	13.1	17.2	15.2	11.8
	2	12.0	16.2	14.6	11.1
	3	12.3	16.5	14.3	10.5
Moisture/%	1	14.2	10.3	10.8	24.9
	2	28.9	23.1	32.9	37.4
	3	28.2	17.5	30.0	32.3
MPN (microorganism g ⁻¹ soil)	1	4.00·10 ⁸	7.00·10 ⁸	4.70·10 ⁸	1.70·10 ⁸
	2	0.14·10 ⁸	0.46·10 ⁸	0.079·10 ⁸	0.13·10 ⁸
	3	17.00·10 ⁸	11.00·10 ⁸	9.50·10 ⁸	7.90·10 ⁸
Other physico-chemical properties					
	Soil 1	Soil 2	Soil 3		
Texture	sandy loam	loam	sandy loam		
Actual density/kg m ⁻³	1520	1490	1790		
Apparent density/kg m ⁻³	600	337	582		
Residual moisture/%	6.7	7.5	3.3		
Total porosity/%	60.5	77.4	67.5		
Air porosity/%	51.5	65.4	51.8		
Water porosity/%	9.0	12.0	15.7		
Plasticity index	little plastic	little plastic	little plastic		
Adherence	grain	grain	grain		
Proctor/%	31.1	30.0	21.5		
Hydraulic conductivity constant, K/m s ⁻¹	8.9·10 ⁻³	4.1·10 ⁻³	5.3·10 ⁻³		
C/N	13	22	9		
Organic matter	4.4	8.3	2.7		
Field capacity/%	16.5	35.5	25.3		
Structure	very good	very good	very good		

Values of pH, T, M and MPN were calculated for each sampling, because they depend on climatic conditions that change over the year. The other properties were determined only once because they remain steady over the year providing the soil was not subjected to strong man activities

tus and riverside soils show an apparent density of 600 kg m⁻³ each.

- Residual moisture is closely related to the humidified organic matter content and to the soil water retention capacity. Pine forest soil shows a residual moisture of 7.5% with an organic matter content of 8.3%.
- Owing to texture and structure, Galician soils show low plasticity, adhesivity and compaction index. This is a direct consequence of the predominance of structuring and also of the predominance of cohesive over adhesive forces [22]. In this particular case soil needs a moisture content of 25% to reach the maximum compaction index, which is more than 10% higher than the value that most part of soils need for maximum compaction. This is a consequence of the predominance of the sand-lime over the clay fraction in Galician soils.

- As it is known, high values of the C to N ratio indicate the generation of soil humification processes [21, 23]. On the opposite, values lower than 5 denote an excessive soil mineralization that could destroy microbial soil population. Analysis of Table 1 shows that soil 3 with a C to N ratio of 9, that means an equilibrium between mineralization and humification, and thus a good fertility that needs from organic matter addition to maintain productive potential. C to N ratio values for the remaining 2 soils are greater than 12 thus showing a predominance of humification processes. It looks strange that soil 3 with the lowest C to N value is the one with the highest MPN. This fact can be explained on the basis of a fast consumption of the senescent organic matter by the very active microbial population, and also because the organic matter content of

this soil, main carbon source, is the lowest of the three soils. Values of the C to N ratio allow the identification of the type of humus as an acid forest mull, in the case of soils 1 and 3 (temperature climate neoformation humus with hardwood vegetation, mainly oaks) than trend to moder in soil 2 as a consequence of the land slope and the peculiar features of pine trees and their action on soil (similar to previous one but subjected to less washing).

- As it was previously mentioned, MPN is highly influenced by soil pH, that is a limiting factor both for growth and activity of microbial population. It can be seen that soil 2 shows the lowest MPN during the whole year that in autumn reaches a value of $0.079 \cdot 10^8$ microorganisms g^{-1} soil. On the opposite, soil 3 having an adequate pH over the year is the one showing the highest MPN, that in autumn becomes $9.5 \cdot 10^8$ microorganisms g^{-1} soil.
- Related to the previous point, it can be seen a parallelism between organic matter content and MPN. In fact, soil 3 has the highest MPN and the lowest organic matter content while soil 2 is the one with the greatest organic matter content and the lowest MPN. This seems very logical since having the lowest number of microorganisms, the consumption of C is minimal and thus the organic matter accumulates. Even so, Galician soils, very rich in organic matter, can be considered as very productive.

Values of pH, temperature, moisture and most probable number of microorganisms (MPN) were calculated for each sampling, as they depend on climatic conditions that change over the year. The other properties were determined only once because they remain steady over the year providing the soil was not subjected to strong man activities.

Next step was the confirmation of the previous results through microcalorimetric experiments. Table 2 shows the main features analysed during the calorimetric study. These features are presented in Fig. 2:

- Q (J g^{-1}), total heat evolved during the whole process. As a thumb rule, the greater the microbial biomass the greater should be Q and thus the soil productive potential.
- P_t (h), is the time to reach the maximum of the peak. The smaller its value, the greater the soil response before external changes.
- Q_t (J g^{-1}), is the total heat evolved up to the maximum of the power–time curve. This feature combines the previous two.
- μ (h^{-1}), is the microbial growth rate constant. It is inversely related to P_t , as the greater is μ , the smaller is P_t (high μ values are related with high soil reactivity). When a soil has high μ values its capacity to react to different external perturbations (forestry or

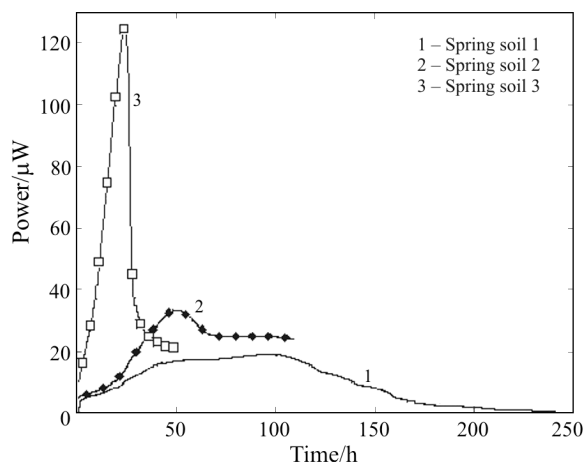


Fig. 2 Evolution of the three soils studied in spring. Every plot shows all the different microbial growth phases [12]: latency phase, exponential growth, steady phase, and death phase. Analysis of the plot shape allows prediction of soil behaviour

agricultural exploitation, pollution phenomena or its capacity to resist fires in forestry) is better.

Values shown in Table 2 are the mean of 4 experiments carried out on each sample and season. From these values it follows:

- Soil 1 shows the greatest mean Q value over the year, while soil 3 shows the lowest one. However, when Q and MPN are analysed together some discrepancy appears. This apparent discrepancy can be justified considering that soil 1 has a P_t of about 210 h in summer, while soil 3 only 22 h. This could be due to soil 1 peculiarities and its difficulty to develop an adequate microbial activity from the forest residues originated by eucalyptus, that are strongly resistant to degradation and, up to certain point, relatively new for soils, as this forest species was introduced in Galicia only 150 years ago. Something common to the three soils is that all reach the highest Q value around spring–summer, that is the most adequate period for microbial activity as a consequence of the temperature values, while winter–autumn show low microbial activity because temperature is a limiting factor for this activity. These values are represented in Fig. 1, where it can be seen that the bioclimatic intensity potential is maximum in spring–summer, thus originating a propitious environment for vegetative development and soil microbial activity.
- P_t values must be analyzed together with μ values to understand soil reactivity, that is the demonstration of the adaptation to soil of the living microorganism in an environment without significant changes in the last 7500 years. As it can be observed, the lowest P_t coincides with the highest μ that correspond to soil 3 (typical Atlantic forest), while soil 1 (eucalyptus forest) shows an opposite

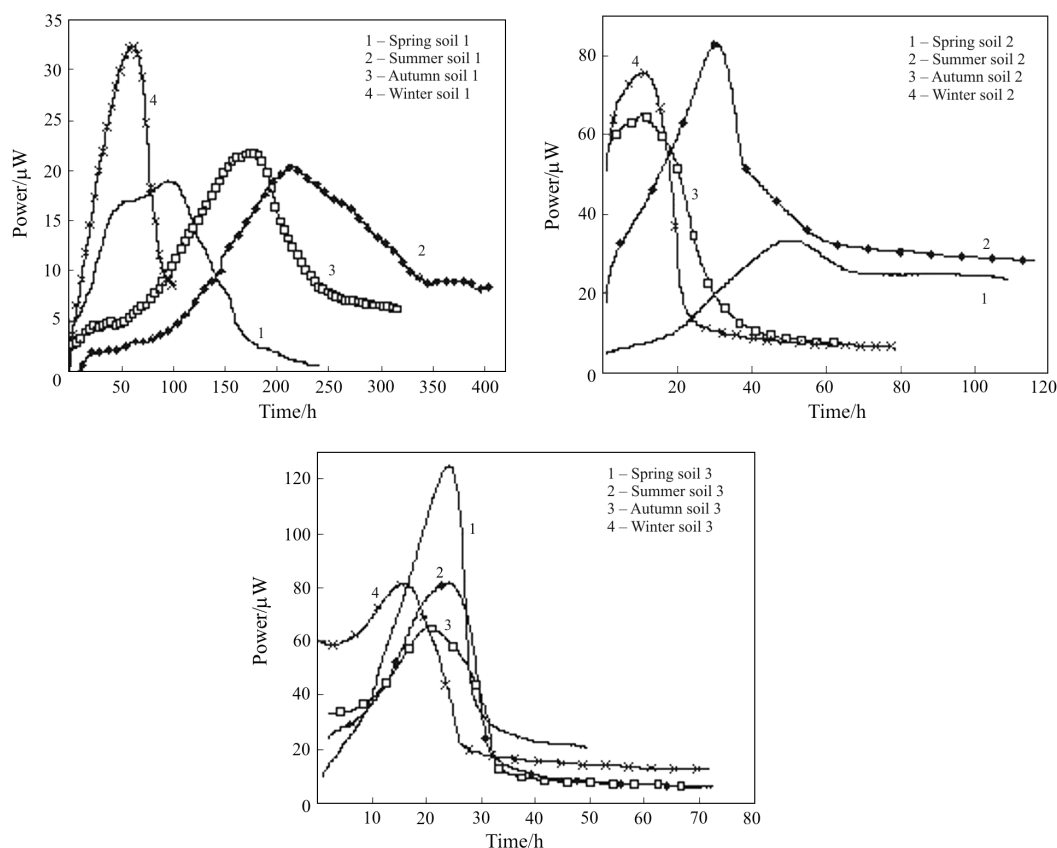


Fig. 3 P - t curves corresponding to microbial activity evolution in the three soils over the year

Table 2 Characteristic microcalorimetric parameters

Soil	Spring	Summer	Autumn	Winter
$Q/J\text{ g}^{-1}$	1 6.10 ± 0.23 (3.77%)	6.85 ± 0.02 (0.27%)	6.32 ± 0.21 (3.26%)	4.48 ± 0.06 (1.27%)
	2 2.35 ± 0.05 (1.94%)	5.70 ± 0.14 (2.49%)	1.32 ± 0.05 (3.65%)	1.40 ± 0.06 (3.98%)
	3 4.54 ± 0.20 (4.31%)	3.53 ± 0.13 (3.60%)	2.45 ± 0.05 (2.20%)	1.73 ± 0.05 (2.74%)
P_t/h	1 89.21 ± 4.07 (4.56%)	209.61 ± 4.49 (2.14%)	175.75 ± 1.77 (1.01%)	67.29 ± 0.30 (0.44%)
	2 55.19 ± 1.15 (2.08%)	36.85 ± 1.40 (3.80%)	10.63 ± 0.34 (3.24%)	8.54 ± 0.24 (2.82%)
	3 22.42 ± 1.11 (4.94%)	22.33 ± 0.59 (2.64%)	20.27 ± 0.24 (1.18%)	17.75 ± 0.82 (4.62%)
$Q_t/J\text{ g}^{-1}$	1 3.45 ± 0.08 (2.19%)	2.80 ± 0.11 (3.76%)	3.29 ± 0.12 (3.53%)	3.08 ± 0.11 (3.73%)
	2 1.35 ± 0.05 (3.71%)	2.59 ± 0.11 (4.36%)	0.36 ± 0.01 (3.17%)	0.33 ± 0.01 (2.95%)
	3 3.24 ± 0.07 (2.06%)	2.14 ± 0.06 (2.63%)	1.05 ± 0.03 (3.20%)	0.91 ± 0.01 (1.31%)
μ/h^{-1}	1 0.054 ± 0.0010 (1.82%)	0.0017 ± 0.0010 (2.74%)	0.0012 ± 0.00001 (1.09%)	0.0117 ± 0.0003 (2.57%)
	2 0.0495 ± 0.0017 (3.49%)	0.0292 ± 0.0013 (4.38%)	0.0104 ± 0.0004 (3.45%)	0.0052 ± 0.0002 (4.54%)
	3 0.0750 ± 0.0013 (1.77%)	0.0531 ± 0.0020 (3.83%)	0.0423 ± 0.0019 (4.59%)	0.0309 ± 0.0010 (3.38%)

$Q/J\text{ g}^{-1}$ is the total heat evolved during the processes; peak time, P_t/h is the time to reach the maximum of the peak; $Q_t/J\text{ g}^{-1}$ is the total heat evolved up to the maximum of the Power-time curve; μ/h^{-1} is the microbial growth rate constant. The final result is 6.14 ± 0.23 (3.75%), where 6.14 is the mean value calculated from 4 microcalorimetric experiments, ± 0.23 is the standard deviation, and (3.75%) is the percentage error

behaviour. Because of the very low pH, that is a limiting factor for microbial activity, soil 2 is a complex example.

- Values of Q_t confirm previous statements, since soil 2 presents a very stable behaviour in its potential productivity along the year in all the calorimetric parameters, despite the apparent differences in Q and P_t .

Figure 2 shows P - t plots for the 3 soils corresponding to spring. As it can be seen, these plots show different shape. This fact makes the shape of the P - t curves to become a very useful tool for studies of soil productivity and state of health [8, 11, 12, 24, 25].

Figure 3 shows microbial activity evolution in the 3 soils over the year. Analysis of this figure allows to observe the different behaviour of microbial

activity over the year, as a consequence of the influence of environmental features, mainly temperature and moisture content.

Conclusions

Microbial activity and soil behaviour greatly depend both on environmental conditions (pH, temperature and moisture) and the forest cover. This study provides interesting data for the design of a rational and sustainable exploitation of the wood resources contained in the different forest formation and also of the agriculture resources of the zone.

Microcalorimetry shows as a very reliable method to assess microbial activity in soils. Results obtained by the microcalorimetric method are in close agreement with those obtained through different physical, chemical and biological tests. The advantage of microcalorimetry over the other techniques is based on the continuous monitoring of soil microbial activity, that provides a real and direct information that leads to productivity potential determination, without the use of other complicated methods that provide only indirect information.

The results achieved through the present study show that the procedure here proposed has been successfully checked using different kinds of soils, both in origin and use, situated in different zones of Galicia. In our opinion, this procedure could be used on any soil everywhere, providing the determination of the own parameters of soil and zones.

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). Part of this research was sponsored by Xunta de Galicia, through different fund projects XUGA20608B98 and PGIDT01MAM20601PR.

References

- 1 B. Chardin, P. Gallice, J. C. Sari and M. Bruschi, *J. Therm. Anal. Cal.*, 70 (2002) 475.
- 2 U. Mortensen, B. Norén and I. Wadsö, *Bull. Ecol. Res. Comm.*, 17 (1973) 189.
- 3 K. Ljunghlom, B. Norén, R. Sköld and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 15.
- 4 K. Ljunghlom, B. Norén and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 24.
- 5 I. Lamprecht, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, London 1980, p. 43.
- 6 I. Barja and L. Núñez, *Soil Biol. Biochem.*, 31 (1999) 441.
- 7 J. P. Belaich, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, New York 1980, p. 1.
- 8 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández, *Soil Biol. Biochem.*, (2005), in press.
- 9 R. Y. Stanier, E. A. Adelberg and J. L. Ingraham, *Microbiología*, Reverté-Repla S. A., Barcelona 1985, p. 262.
- 10 J. K. Mitchell, *Fundamentals of Soil Behaviour*, John Wiley and Sons, Inc., New York 1993.
- 11 L. Núñez-Regueira, O. Núñez-Fernández, J. A. Rodríguez-Añón and J. Proupín Castiñeiras, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 123.
- 12 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández, *J. Therm. Anal. Cal.*, 80 (2005) 35.
- 13 R. G. Petersen and L. D. Calvin, *Methods of Soil Analysis, Part. 1 Physical and Mineralogical Methods*, American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, p. 33.
- 14 I. Lamprecht, *Combustion Calorimetry*, Elsevier, Amsterdam 1999, p. 175.
- 15 Lisardo Núñez, N. Barros and I. Barja, *J. Thermal Anal.*, 41 (1994) 1379.
- 16 J. Suurkuusk and I. Wadsö, *Chemistry Scripta*, 20 (1982) 155.
- 17 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *Thermochim. Acta*, 237 (1994) 73.
- 18 J. L. Montero de Burgos and J. L. González Rebollar, *Diagramas Bioclimáticos*, Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid 1973.
- 19 Resumo de datos climatolóxicos da rede das estacións do centro de investigacións forestais de Lourizán 1955–1994. Xunta de Galicia-Consellería de Agricultura, Gandería e Montes, Santiago de Compostela 1995.
- 20 W. Smykatz-Kloss, *J. Therm. Anal. Cal.*, 69 (2002) 85.
- 21 D. Grell, E. Grell, P. Bugnon, B. Dietrich and J. M. Lehn, *J. Therm. Anal. Cal.*, 77 (2004) 483.
- 22 L. D. Baver, W. H. Gardner and W. R. Gardner, *Soil Physics*, John Wiley and Sons, Inc. New York 1991, p. 78.
- 23 V. Ivanova, V. Petkova and Y. Pelovski, *J. Therm. Anal. Cal.*, 74 (2003) 387.
- 24 J. Wu, P. C. Brookes and D. S. Jenkinson, *Soil Biol. Biochem.*, 28 (1996) 511.
- 25 S. A. M. Critter, S. S. Freitas and C. Airoidi, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 145.

DOI: 10.1007/s10973-005-7200-z

DESIGN OF AN EXPERIMENTAL PROCEDURE TO ASSESS SOIL HEALTH STATE*

Lisardo Núñez-Regueira[†], J. Proupín-Castiñeiras, J. A. Rodríguez-Añón^{**},
Maria Villanueva-López and O. Núñez-Fernández

Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied Physics, Faculty of Physics, Av. J. M. Suárez Núñez s/n.
University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

The design of a rigorous experimental procedure is the basis for any environmental study. In this work, the basic criteria are established for determination of soil health using microcalorimetry as the main technique complemented by the study of physical (temperature, moisture, porosity, hydraulic conductivity, density and plasticity), chemical (pH and C to N ratio) and biological features (most probable number of microorganisms and organic matter content), and also environmental properties in the form of bioclimatic diagrams. The design was elaborated using as a reference a humic eutrophic-Cambisol subjected to afforestation with *P. pinaster* Aiton situated in Viveiro (Galicia, NW Spain). Main results of this study refer to total heat evolved during the processes (2.65 to 3.81 J g⁻¹), time to reach the maximum of the peak from 16.17 to 19.29 h, and microbial growth rate constant from 0.0732 to 0.1043 h⁻¹. These results change over the year as they are influenced by the action of environmental parameters over soil microbial activity. The results are in close agreement with some others previously reported using different experimental techniques.

Keywords: environmental study, experimental procedure, microcalorimetry, soil health state

Introduction

Soil can be considered as an open three-phase physical mean, highly complex, dynamic and in continuous evolution that is influenced by environmental, anthropic and endogenous features.

From the last 1960's, FAO (Food and Agricultural Organization) declared soil and its vegetal cover as an item to be protected as a support of the world society welfare. This was the starting point for a scientific development of soil quality at social, political, economical and environmental levels. Soil quality, or soil health, can be defined as the integration of the innate soil chemical, physical and biological attributes within a framework of space, time and land use. Because of this, soil quality can be used as an indicator of soil capacity to develop in a sustainable way its basic properties that go from the mean where the active growth of vegetal takes place, a key for agriculture productivity, to a water purifier system [1], key for the distribution and the improvement of the quality of this very important and limited natural resource.

The design of the experimental procedure here presented is based on a set of specific assumptions [2]:

- Soil quality is the direct responsible for the capacity to generate and maintain agriculture performance.

- Soil productivity directly depends on main features that are common to every kind of soil: physical fertility and own fertility.
- Microorganisms are real bioindicators of soil quality.
- Soil living phase evolution, and thus the study of microbial activity in soils, can be quantified by using microcalorimetry [3–8].
- Microbial activity is strongly influenced by environmental features, mainly humidity and temperature.

From the ecological point of view, the study of a soil begins with a precise and detailed examination of it as a whole and also of the special characteristics of its surroundings, from climate conditions to vegetal cover or geological substratum [9–11]. Because of this, the microcalorimetric study of soil microbial activity must be complemented with a detailed analysis of those features having influence on this activity. Among these features, the following must be quoted:

- Soil physical properties that show the immediate soil response before external disturbances that affect mainly soil structure. These disturbances can influence on redistribution of water, matter, gases and energy inside the soil. Among these properties one points out: temperature, moisture, field capacity, porosity, hydraulic conductivity, texture, structure, density, residual moisture, plasticity index, compactibility and adhesivity.

* Presented at MEDICTA Conference 2005, Thessaloniki, peer reviewed paper.

** Author for correspondence: faliber@usc.es

- Chemical properties, responsible for internal processes that modify physical fertility and own soil fertility, such as: elemental composition and C to N ratio.
- Biological properties, mainly related to organic matter content and the most number probable of microorganisms (MPN).
- Climatic conditions: temperature, humidity, evapotranspiration residual evapotranspiration, hydric availability or bioclimatic intensities that are recorded in the form of bioclimatic diagrams.

Analysis of microbial activity must be carried out considering also all the features previously mentioned. This joined study requires the design and development of a very rigorous experimental procedure [8, 10, 11] to be used for every soil and conditions. The global study of microbial activity evolution in soils subjected to very changeable climate conditions, as it happens with Galician soils need the samples being collected in the four different seasonal periods.

This study was made on a humic-eutrophic Cambisol covered by forest residues originated from 2 reforestations with *P. sylvestris* L. in the last 20 years. The sampling zone was situated in a valley with an altitude of about 100 m, protected from winds, surrounded by pine and eucalyptus forest, with trees about 25 m high, little sunny with high humidity and oriented to north. Soil surface is poor in vegetative cover, with little forest residues, very stony, and based on slate.

Experimental

Materials and methods

The procedure here designed is a complex one and, because of this, it was divided into different phases: sampling, laboratory preparation of samples, determination of physical, chemical and biological properties and environmental features and calorimetric experiments.

Sampling

First stage in the experimental procedure was to settle standard statistical criteria that allow the choice of a representative sample for every kind of soil. After 10 years, it was found an experimental procedure for the sampling stage that can be summarized [7, 8, 10–13] in the following points:

- Description and environmental characterization of the zone and geological substratum.
- Choice of the plot where the study is to be made with a minimal surface area of 100 m². This area is considered to be ideal for Galician soils; however, it could be changed depending on type of soil, zone or on the complexity of the study to be done.

- Division of the sampling zone in 1 m² plots and choice of 6 of them according to statistical criteria after elimination of those situated in the border (edge effect).
- After removal of the very top soil layer, where the vegetable cover is situated, samples were collected to a depth of about 15 cm. All samples from one site were mixed and sieved. The sample was reduced through a coning and quartering procedure. By doing so, the sample was highly homogenized, thus allowing to obtain reproducible and representative results [14].
- The samples were introduced into polyethylene bags, to avoid contamination and loss of moisture and then sent to the laboratory in less than 10 h.
- Using the procedure previously described, two different kinds of samples were taken, one for microcalorimetric measurements (400 g), named sample 1, and the other for determination of physical, chemical and biological parameters (10 kg), named sample 2.

Sample preparation

Once in the laboratory, moisture content was determined as the mass loss after drying of the sample in a natural desiccating oven, at 105°C [15], to constant mass. Samples were taken off the polyethylene bags and extended on special trays where they were left for drying at a stable room temperature of 20°C during 72 h for subsequent determination of residual moisture following the method above described.

Once dried, samples were sieved using a R72 (mesh size 2×2 mm²) and the different fractions were characterized according to grain size. The most thin fraction was used for texture determination through Boyoucos method. These data together with field determinations, allow characterization of soil structure. The fraction with mesh size greater than 2 mm was discarded, because even it plays a role in soil global behaviour, this soil is not used for any subsequent test.

Samples to be used for calorimetric experiment (named sample 1) of about 200 g were then placed in hermetically closed polyethylene bags and left in the laboratory, at 4°C, for up to 3 months to ensure reproducibility of measurements [16] before being used for the calorimetric experiments. The remaining sample (sample 2) of about 10 kg, was used for determination of physical, chemical and biological features.

Determination of physical, chemical and biological properties and environmental features

All physical, chemical and biological properties were determined through normalized tests. The following determinations were made:

- Soil pH was determined using a pH-meter. The measurements were performed introducing the electrode in the supernatant solution prepared using 10 g of soil and 25 mL of water [17].
- Water-holding capacity was determined by using a glass tube fitted with a fritted glass disc in the bottom being immersed in water [18].
- Texture. This soil property were determined using Boyoucos hydrometer method following ASTM Standard 152H [19]. These values are shown in the texture triangle ISSS/FAO following the standards proposed by the USDA classification scheme [20].
- Actual density was determined by picnometry [21, 22].
- Bulk density was determined, as it was mentioned above, by the cylinder method [20, 22].
- Moisture and residual moisture were determined in the laboratory by the gravimetric method [16, 23].
- Porosity was determined from data above reported [24].
- Plasticity index was calculated after determination of the soil liquid limit, using the Casagrande Apparatus method (425 μm BS ASTM 4318 or BS 1377:2) and the soil plastic limit by the Atterberg method, in which the sample is sieved (sieve no. 40 ASTM, mesh 0.1 mm). The soil was classified using the plasticity chart, ASTM-D2487 [20, 21].
- Determination of the optimum moisture content for compactibility, and the maximum degree of dry density by the Proctor test BS1377 part. 4, 2.5 kg Rammer method [22].
- Adhesivity was determined by the nickel spatula method [25].
- Hydraulic conductivity constant and infiltration rate were determined using the constant head permeameter, very similar to that designed and used by Darcy and O'Neal. It has a pore 0 and diameter 6 cm funnel following the classification proposed by Landon [26].

Climatic characteristics are presented in the form of a bioclimatic diagram [27, 28]. This diagram is very helpful for the understanding of the influence of climatological features on the soil living phase and the soil productive capacity as a function of the steady vegetative activity of the vegetation growing in this particular zone. Interpretation of the potential bioclimatic intensity is very important, since it shows greater values when both temperature and hydric availability reach the ideal values what in Galicia correspond to spring and beginning of summer.

Calorimetric experiments

After being stored for three months at a 4°C [12], calorimetric experiments were performed using a microcalorimeter 2277 Thermal Activity Monitor [29].

Measurements were carried out in hermetically sealed 5 mL stainless steel ampoules. Microcalorimetric measurements were made using a closed ampoule method [13]. Soil samples of 1 g size were treated with 1.25 mg of glucose g⁻¹ soil [7] as a carbon source to assure a microcalorimetric activity capable of being measured. Experiments were repeated four times. The reference ampoule was filled with 1 mL of distilled water [30, 31]. Calorimetric results showing soil behavior were reported in the form of power–time curves. All power–time plots show the four phases common to microbial growth: latency phase, exponential growth, steady phase, and dead phase [8, 11]. A detailed analysis of the shape of the different phases provide a very valuable information about soil behaviour. The main features analysed from microcalorimetric experiments are:

- Q (J g⁻¹) is the total heat evolved during the processes. The greater Q , the greater the microbial activity and thus the greater soil productivity.
- Peak time, P_t (h), is the time to reach the maximum of the peak. This feature is related to soil reactivity, in the sense that the less P_t , the greater the soil activity, and thus more dynamic is soil. As a rule, soils where microbial community, climate, and forest cover maintain together for years, that is soils close to 'climax', use to be more reactive. From the agriculture point of view this is very favourable, but in case of contamination the effect can become devastating.
- Q_t (J g⁻¹), is the heat evolved up to the maximum of the power–time curve. This parameter combines the previous 2. High quality soils must present high Q_t in the lowest possible time.
- μ (h⁻¹), is the microbial growth rate constant. It is directly related to P_t , as the greater μ , the greater should be P_t .

Results and discussion

The results obtained for physical, chemical, and biological properties from the different tests are recorded in Table 1. From these results, it follows:

- Values of pH are in the range from 4.2 to 4.9. These values are strongly acid and could generate a possible toxicity from Al³⁺ and the excess of Co, Cu, Fe, Mn and Zn because of their high mobility in these conditions and also the deficiency in Ca, K, N, Mg, Mo, P and S [32, 33]. This fact limits soil productivity and it can be used only by acidophilic species. These pH values are higher than those found for soils covered by stable pine forest not subjected to forest exploitation that are in the range from 3.3 to 4.6. The abuse of lime to improve pH trying to reach values close to 6 originates unfavourable

Table 1 Physical, chemical and biological properties corresponding to the soil studied

	Spring	Summer	Autumn	Winter
pH	4.2	4.9	4.9	4.2
Temperature/°C	12.0	16.0	14.3	11.8
Moisture/%	22.5	13.5	19.3	24.9
MPN (microorganisms/g soil)	$0.22 \cdot 10^8$	$0.21 \cdot 10^8$	$0.70 \cdot 10^8$	$0.17 \cdot 10^8$
Texture			Loam	
Actual density/kg m ⁻³			1790	
Apparent density/kg m ⁻³			580	
Residual moisture/%			sponge organic type	
Total porosity/%			3.4	
Air porosity/%			67.6	
Water porosity/%			excessive	
Plasticity index			49.1	
Adherence/kg m ⁻²			18.5	
Humidity percentage to achieve the ideal compaction/%			little plastic	
Hydraulic conductivity constant, $K/m\ s^{-1}$			ML/OL (silt organic soil)	
C/N			0.5 to 1.5	
Organic matter			grain	
Field capacity/%			20.8	
Structure with abundant stones and diameter between 1 and 3 cm			$3.9 \cdot 10^{-3}$	
			excessive	
			10	
			4.4	
			32.2	
			not very good	

Values of pH, T, M and MPN were calculated for each sampling, because they depend on climatic conditions that change over the year. The other properties were determined only once because they remain steady over the year providing the soil was not subjected to strong man activities

phenomenon of compaction and also cationic interchange capacity block that make the soil unproductive as the consequence of an excess of calcium in the soil solution.

- Soil temperature is rather stable over the year with an average value of 13.5°C. Taking into account that for Galician soils a temperature over 20°C is a limiting temperature for microbial growth, it can be considered that the average temperature is adequate and not limiting for microbial activity. In adjacent soils the average temperature is about 2°C greater because of their stable vegetable cover. The soil used for this study was lacking in vegetable cover because it was subjected to abundant silviculture tasks to ensure viability of wood exploitation.
- Average humidity is lower than usual values as a consequence of the decrease in rain suffered in Galicia in 2003. Humidity values use to be greater than water-holding capacity (32.2%). Even so, humidity has adequate values and except for periods with very high temperatures, this is not a limiting factor for microbial activity.
- After analysis of humidity values, it can be seen that these values are high because of the great organic matter content that favours water retention along soil profile. This causes also adequate values for residual humidity.
- Porosity, 67.6%, shows a high value which is adequate and typical of a free soil. Also the ratio between water and air porosities is the adequate one. The high value of porosity make the hydraulic conductivity, $3.9 \cdot 10^{-3}\ m\ s^{-1}$, to be excessive. Even so, compared to adjacent zones not subjected to anthropic activities, this hydraulic conductivity is low. Zones covered by pine, eucalyptus or oak forests present hydraulic conductivities of $4.10 \cdot 10^{-3}$, $8.9 \cdot 10^{-3}$ and $5.3 \cdot 10^{-3}\ m\ s^{-1}$, respectively.
- The different silviculture works have originated a loss of surface structure but, even so, soil can be considered as useful for agriculture performance. Soil texture is loam-type that defines the little plastic nature of this soil that is classified as a ML-OL, silt organic soil.

- As regards to density, the value, 580 kg m^{-3} , of the bulk density defines this soil as a sponge organic type and because of this useful for agriculture exploitation. The actual density presents values that correspond to the slate substratum prevailing in this kind of soil.
- The value of humidity necessary to reach maximum compaction is around 20.8%. This value is rather adequate after analysis of the remaining properties and, in particular texture.
- Low value of adhesivity classify this soil as grain. This is an expression of the joined action of the remaining properties and shows the predominance of soil structuring forces, cohesive forces, over the adhesive forces that originate soil loss of structure [34].
- The ratio C to N is 10. This value shows an equilibrium between humification and mineralization for this soil [35]. Total nitrogen was determined by Kjeldahl method and elementary composition by a Carlo Erba analyzer [36]. This kind of soils need constant attention to avoid irreversible mineralization and because of this, soil productivity needs the constant addition of organic matter and some other kinds of amendments. This soil could not support by itself the constant growth of a wooded area and could originate a scrubland.
- Values of MPN were determined by the presence or absence of microorganisms in several individual aliquots of each of several consecutive dilutions of soil or other material [37]. Values of MPN are in the range from $0.17 \cdot 10^8$ microorganisms g^{-1} soil, in winter, to $0.7 \cdot 10^8$ microorganisms g^{-1} soil in summer. These values are very poor and correspond to inappropriate health soils, also, these values are very influenced by soil pH, that is one of the main limiting factors for microbial activity, together with temperature and humidity.
- The organic matter content can be consider as an excessive one and because of this, it is not a limiting factor for soil quality or microbial activity in it. A high content in organic matter, mean value greater than 4%, is a general characteristic of Galician soils.

From the results corresponding to physical, chemical and biological tests and their joined analysis with bioclimatic diagrams, it could be said that microbial activity in these soils is not specially high and also that environmental features have a small influence in these activities as a consequence of the stable climate of the zone and also of the peculiarities of the sampling zone.

To be sure of these statements, a microcalorimetric study was carried out. Table 2 shows results of the main features analyzed in these calorimetric experiments:

- Total heat, Q , is relatively lower than values shown by different soils in this zone. It can be seen that a typical Atlantic forest situated in this zone, that was used as reference, shows a mean value $Q=3.06 \text{ J g}^{-1}$, without addition of any kind of amendments while Q value for the soil here studied was 3.25 J g^{-1} . Compared to the heat evolved from soils covered by pines, 2.69 J g^{-1} , the value here presented is much higher as pH is a limiting factor that is very acid for soils covered by pine species.
- The addition of amendments make soil behaviour very reactive thus originating very low P_t values. P_t for this soil, 18 h, is very low compared to values 21 and 28 h presented by the Atlantic forest or the stable pine forest respectively.
- The previous point is in agreement with μ values that are around 0.090 h^{-1} .

The joined study of physical, chemical, biological and environmental features together with microcalorimeter results allows to conclude that the quality of this soil need the addition of amendments in the form of nutrients or pH stabilizers.

Figure 1 is a power–time plot of the soil corresponding to spring. In it can be seen:

- There is a small latency phase very peculiar and marked.
- Exponential growth phase has a great slope that makes the curve to be very sharp.

Table 2 Characteristic microcalorimetric parameters

	Spring	Summer	Autumn	Winter
$Q/\text{J g}^{-1}$	3.81 ± 0.14 (3.66%)	3.62 ± 0.09 (2.37%)	2.93 ± 0.05 (1.75%)	2.65 ± 0.05 (1.97%)
P_t/h	16.17 ± 0.51 (3.18%)	16.17 ± 0.51 (3.18%)	19.29 ± 0.44 (2.57%)	18.37 ± 0.44 (2.37%)
$Q_t/\text{J g}^{-1}$	2.73 ± 0.04 (1.61%)	2.67 ± 0.12 (4.35%)	2.26 ± 0.08 (3.66%)	1.95 ± 0.07 (3.39%)
μ/h^{-1}	0.1043 ± 0.0041 (3.88%)	0.0935 ± 0.0038 (4.09%)	0.0910 ± 0.0026 (2.85%)	0.0732 ± 0.0022 (3.00%)

Q (J g^{-1}) – total heat evolved during the processes; peak time, P_t (h) – time to reach the maximum of the peak; Q_t (J g^{-1}) – total heat evolved up to the maximum of the power–time curve; μ (h^{-1}) – microbial growth rate constant. The final result is 3.81 ± 0.14 (3.66%), where 3.81 is the mean value calculated from 4 microcalorimetric experiments, ± 0.14 is the standard deviation, and (3.66%) is the percentage error

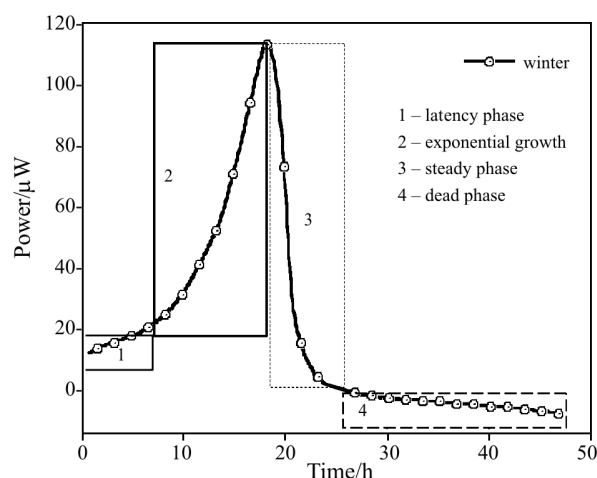


Fig. 1 Power-time curve corresponding to winter. This plot shows the four different phases of microbial growth [8, 11]: latency phase, exponential growth, steady phase, and dead phase

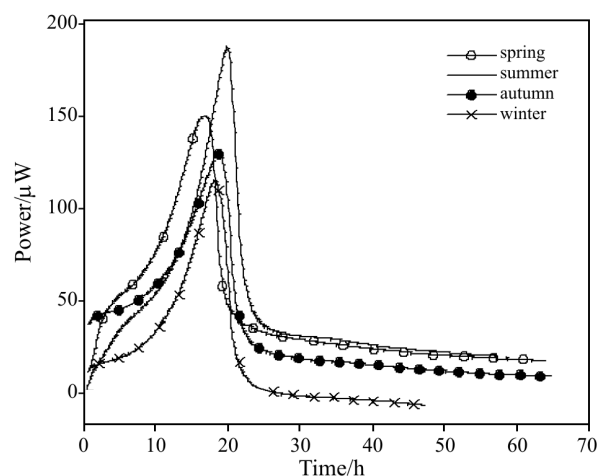


Fig. 2 Power-time curve showing the evolution over the year of microbial activity

- Exponential and death phases are very symmetric and fast.
- The steady phase is a very short one.

Figure 2 allows the analysis of microbial activity in soil over the year. This plot also shows that the maximum microbial activity corresponds to summer in which temperature presents adequate values that are lower in winter.

Conclusions

The study of the evolution of microbial activity using the microcalorimetric technique provides very adequate information about soils quality. The results obtained through this technique are in reasonable good agreement with those obtained using other more complicated equipments [38].

The combined study of physical, chemical, biological and environmental features provides rapid and suitable information about microbial activities in soils.

The procedure here proposed has been successfully checked using different kinds of soils, both in origin and use, situated in different zones of Galicia. In our opinion, this procedure could be used on any soil everywhere, providing the determination of the own parameters of soil and zones.

Acknowledgements

The authors wish to thank Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). Part of this research was sponsored by Xunta de Galicia, through different fund projects XUGA20608B98 and PGIDT01MAM20601PR.

References

- 1 B. Chardin, P. Gallice, J. C. Sari and M. Bruschi, *J. Therm. Anal. Cal.*, 70 (2002) 475.
- 2 R. Y. Stanier, E. A. Adelberg and J. L. Ingraham, *Microbiología*. Reverté-Repla S. A., Barcelona 1985, p. 262.
- 3 U. Mortensen, B. Norén and I. Wadsö, *Bull. Ecol. Res. Comm.*, 17 (1973) 189.
- 4 K. Ljungholm, B. Norén, R. Sköld and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 15.
- 5 K. Ljungholm, B. Norén and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 24.
- 6 I. Lamprecht, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, London 1980, p. 43.
- 7 J. P. Belaich, *Biological Microcalorimetry* Academic Press, New York 1980, p. 1.
- 8 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *J. Thermal Anal.*, 41 (1994) 1379.
- 9 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *Thermochim. Acta*, 237 (1994) 73.
- 10 I. Barja and L. Núñez, *Soil Biol. Biochem.*, 31 (1999) 441.
- 11 L. Núñez-Regueira, O. Núñez-Fernández, J. A. Rodríguez Añón and J. Proupín Castiñeiras, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 123.
- 12 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández, *J. Therm. Anal. Cal.*, 80 (2005) 35.
- 13 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández, *Soil Biol. Biochem.*, (2005) in press.
- 14 R. G. Petersen and L. D. Calvin, *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, p. 33.
- 15 J. K. Mitchell, *Fundamentals of Soil Behaviour*, John Wiley & Sons, Inc., New York 1993.
- 16 I. Lamprecht, *Combustion Calorimetry*, Elsevier, Amsterdam 1999, p. 175.
- 17 G. W. Thomas, *Soil pH and Soil Acidity*. In: D. L. Sparks, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 3 Chemical Methods*. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Sci-

- ence Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1996, pp. 475–490.
- 18 D. K. Cassel and D. R. Nielsen, Field Capacity and Available Water Capacity. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 901–926.
 - 19 G. I. Boyoucos, *Agronomy J.*, 54 (1962) 623.
 - 20 G. W. Gee and J. W. Bauder, Particle-size Analysis. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 383–411.
 - 21 G. R. Blake and K. H. Hartge, Bulk Density. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 363–375.
 - 22 G. R. Blake and K. H. Hartge, Particle Density. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 377–382.
 - 23 W. H. Gardner, Water Content. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 493–544.
 - 24 R. E. Danielson and P. L. Sutherland, Porosity. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 443–461.
 - 25 I. S. Kaúrichev, Ed. *MIR Moscú*. 1984. URSS.
 - 26 A. Klute and C. Dirksen, Hydraulic Conductivity and Diffusivity: Laboratory Methods. In: A. Klute, (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 1 Physical and Mineralogical Methods* (2nd edition). American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc. Madison-Wisconsin 1998, pp. 687–734.
 - 27 J. L. Montero de Burgos and J. L. González Rebollar, *Diagramas Bioclimáticos*, Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid 1973.
 - 28 Resumo de datos climatolóxicos da rede das estacións do centro de investigacións forestais de Lourizán 1955–1994. Xunta de Galicia-Consellería de Agricultura, Gandería e Montes, Santiago de Compostela 1995.
 - 29 J. Suurkuusk and I. Wadsö, *Chemistry Scripta*, 20 (1982) 155.
 - 30 T. Kawabata, H. Yamano and T. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 1281.
 - 31 H. Yamano and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 1493.
 - 32 W. Smykatz-Kloss, *J. Therm. Anal. Cal.*, 69 (2002) 85.
 - 33 D. Grell, E. Grell, P. Bugnon, B. Dietrich and J. M. Lehn, *J. Therm. Anal. Cal.*, 77 (2004) 483.
 - 34 L. D. Baver, W. H. Gardner and W. R. Gardner, *Soil Physics*, John Wiley & Sons, Inc. New York 1991, p. 78.
 - 35 V. Ivanova, V. Petkova and Y. Pelovski, *J. Therm. Anal. Cal.*, 74 (2003) 387.
 - 36 E. B. Knapp, L. F. Elliot and G. S. Campbell, *Soil Biology Biochemistry*, 15 (1983) 455.
 - 37 W. G. Cochran, *Biometrics*, 6 (1950) 105.
 - 38 S. A. M. Critter, S. S. Freitas and C. Airoidi, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 145.

Received: August 1, 2005

MEDICTA 2005

DOI: 10.1007/s10973-005-7199-1

DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL PROCEDURE TO ANALYSE THE ‘SOIL HEALTH STATE’ BY MICROCALORIMETRY

J. Rodríguez-Añón^{*}, J. Proupín-Castiñeiras, M. Villanueva-López and O. Núñez-Fernández

Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied Physics, Faculty of Physics, University of Santiago de Compostela 15782 Santiago, Spain

This work is a ‘historical’ revision of the evolution of an experimental procedure developed by Prof. Lisardo Núñez and his research group TERBIPROMAT to study the sustainability and the soil health state.

From the very beginning, in 1993, the microbial activity was the main bioindicator selected to analyse the ‘soil health state’. For this reason, a microcalorimetric technique was used lately to analyse the influence of different human activities such as reforestation, agricultural exploitation or pollution on the microbial activity in different soils. Microcalorimetry is the main scientific technique used in this research to follow the stimulation of the microbial activity by addition of glucose. The data obtained were complemented by a study of physical, chemical and biological parameters of soil and allowed to follow the microbial activity in soils of Galicia (Spain) along the year.

The final results, still in revision, will be helpful in establishing a data basis for real maps of the ‘health state’ of different soils. Such maps could be used to design processes that help us to decide how we should exploit soils ensuring their sustainability.

Keywords: environmental influence, microbial activity, microcalorimetry, soil health state, sustainability

Introduction

Soil can be defined as an open three-phase physical mean medium highly complex and heterogeneous [1, 2], dynamic, and in continuous evolution, influenced by environmental, man-made and endogenous factors.

About one third of the world agriculturally cultivable land was lost in the last 100 years, and the other part suffered a deterioration of its quality. Soil quality, or soil health, can be understood as the integration of the innate chemical, physical and biological soil attributes within a framework of space, time and land use. For this reason, soil quality is used as an indicator of soil capacity to develop its basic properties in a sustainable way, such as the environment where the active growth of plants takes place (a key for agriculture productivity), or as a water purifier system [3] (key for the distribution and the improvement of the quality of this important and limited natural resource).

For this reason, the loss of fertile land and natural resources owing to different factors produces serious problems that affect the development of the current technological society. This worrying situation forced the Food and Agriculture Organization (FAO) to declare soil an item to be protected as a support of the world society welfare. In particular, the European Union (EU) has elaborated many environmental plans

focussing on the protection and maintenance of the environment under the premises of a rational and sustainable development and as a basis for the preservation of the current technological society. Since the 1980’s, large stretches of fertile land traditionally used for agriculture were neglected in Galicia (NW Spain), thus originating an aggressive forest exploitation which introduced fast growing forest species to be used as raw materials for pulp production. This new ‘economical’ activity resulted in a stress diminishing the soil productive capacity and, as a consequence, the loss of its vegetative activity.

Therefore, and assuming the definitions of soil and soil quality, an experimental procedure was designed based on a set of specific assumptions:

- Soil quality is directly responsible for the capacity to generate and maintain agriculture performance [4].
- Soil productivity directly depends on main features that are common to every kind of soil, such as (i) physical fertility or capacity to supply plants with the necessary nutrients in an adequate form, proportion and time, as (ii) the own fertility, or as (iii) the supply of the water, oxygen and heat necessary for plant growth.
- Microorganisms are real bioindicators of soil quality; the soil stress originating from a continuous exploitation reduces both, the quantity and the diver-

^{*} Author for correspondence: fabelen@usc.es

sity of microorganisms and thus diminishing the future soil richness. Therefore, it can be assumed that the living phase is finally responsible for the productive potential of soil [4].

- The evolution of the living soil phase, and the microbial activity in soil can be quantified by microcalorimetry [2, 5–10].
- As the microbial activity is strongly influenced by environmental features, mainly humidity and temperature, soil quality depends on physical, chemical and biological features and also on the environmental conditions. The investigations must be complemented by a deep analysis of the various mentioned soil factors of those environmental properties with a strong influence on the microbial activity in soil [2, 11–13]. The results calculated from different tests along the year must be analysed together in order to obtain a real knowledge of the global soil behaviour.

For a better understanding of this work, it has to be taken into account that the experimental approach was developed after 16 years of intensive scientific investigations.

Experimental

Design and development of the experimental procedure for analyzing soils begins in 1993 [14] when the Research Group TERBIPROMAT studied the degradation of glucose by soil microorganisms using a microcalorimetric technique. In those experiments, soil samples were obtained from a forest in Pedroso (Santiago de Compostela, Spain) through a basic sampling procedure which was improved during the last years. Some properties of soil, such as water holding capacity, percentages of carbon and nitrogen, C-to-N ratio, pH and water content were also determined. All experiments were carried out at 35°C using a TAM 2277 of Thermometric AB (Sweden). Measurements were carried out in hermetically sealed 5 mL stainless steel ampoules. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose. Experiments were repeated four times. The reference ampoule was filled with 1 mL of distilled water. Table 1 presents the amounts of glucose degraded by soil microbes, $\Delta S = S_0 - S_t$, between time '0' and time 't', determined by chemical analysis. The most important contributions of this study were:

- The demonstration that the value of the microbial growth rate constant μ can reasonably be regarded as the specific degradation rate of glucose and that it should be used as an index term to express how fast organic material is decomposed by microbial action.

Table 1 Amount of glucose, $(S_0 - S_t)$, consumed by the soil microorganisms, determined by chemical analysis at different times [14]

Time/h	$Q_T/J\ g^{-1}$	$(S_0 - S_t) \cdot 10^{-3}$ per g glucose
0	0.30	0.00
5	0.49	0.01
10	1.43	0.14
15	3.11	0.34
20	5.54	0.27
25	7.98	0.94
40	12.41	1.44

S_0 – the initial amount of glucose in glucose mg^{-1} ,
 S_t – the amount of glucose at time t (after peak time) in glucose mg^{-1}

- The obtained relationship between the heat evolution of soil samples and the microbial activity permits the quantification of kinetic parameters for the microbial activity.
- The drop of the power–time ($P-t$) curve to the baseline is due to the exhaustion of glucose and not to the 'supposed' excess of CO_2 or a lack of oxygen (?).
- The confirmation of the importance of the temperature in the process of glucose degradation by microorganisms present in soils.

Once these conclusions were well established, the influence of different temperatures on the microbial growth was studied by Prof. Núñez concluding that the best temperature for Galician soils is about 25°C. Nowadays, different experiments are carried out at 20°C because this is the mean temperature in Galician soils along the year.

Following the experimental procedure of the previous paper [14], studies were performed to determine the effect of storage of soil at 4°C on the microbial activity determined by microcalorimetry [15]. The main conclusion was that important changes of the metabolic activity of microorganisms appeared when stored at 4°C. They are seen in the decrease of both, the total heat evolution, Q_T , and the growth rate constant μ . Since this moment it was assumed that storage of soil at 4°C for 3 months is an appropriate time to be sure that all microorganisms begin to grow at the same time and under the same conditions when they are brought back to the correct experimental temperature. Table 2 shows the values of the Peak-time (P_t), Peak-height (P_h), Q_T and μ obtained from $P-t$ curves in this study. In the last time, this 'storage effect' is checked again because an anomalous behaviour was observed in different soils, especially in agricultural ones.

Table 2 Characteristic microcalorimetric values calculated from $P-t$ curves. These data were obtained from fresh and stored soils during 3 and 6 months [15]

Sample	Peak-time/h	Peak-height/W g ⁻¹	Q_T /J g ⁻¹	μ /h ⁻¹
Fresh soil	14.75±0.29	8.54±0.38	15.17±0.37	0.155±0.002
3 months	18.67±0.30	7.66±0.38	11.19±0.42	0.100±0.006
6 months	33.17±1.21	7.28±0.16	9.05±0.56	0.019±0.003

Q_T (J g⁻¹) – the total heat evolved during the processes, peak time – the time to reach the maximum of the peak, peak height (W g⁻¹) – the total heat evolved up to the maximum of the power-time curve, μ (h⁻¹) – the microbial growth rate constant. The final result is 14.75±0.29 h, where 14.75 h is the mean value calculated from 4 microcalorimetric experiments, and ±0.29 h is the standard deviation

Table 3 Values of μ at different temperatures [20]

Temperature/K	μ /h ⁻¹
288.15	0.026±0.005
293.15	0.033±0.005
298.15	0.047±0.005
303.15	0.057±0.004

Table 4 Values of ΔG° at different temperatures [20]

Temperature/K	ΔG° /kJ mol ⁻¹
288.15	98.85±0.44
293.15	100.03±0.22
298.15	100.92±0.29
303.15	102.40±0.17

Results and discussion

Two years before, the Research Group TERBI-PROMAT had studied different processes to optimize the microcalorimetric technique [16–19] in order to use it in various research fields.

The effect of different temperatures on the microbial degradation of glucose in soils was studied in 1997 [20]. An increase in μ with temperature was observed, that corresponded to the usual Q_{10} rule with a rate increase of 2 to 3 for a temperature elevation of 10°C. Table 3 shows the values of the microbial growth rate constant at different temperatures. It is well known, that the temperature influence on these processes is determined by the activation energy E . This energy can be calculated from the Arrhenius equation:

$$k = Ae^{\frac{-E_a}{RT}}$$

where k is the rate constant, A the so-called pre-exponential factor, R the gas constant and T the absolute temperature.

Assuming that the pattern of bacterial growth is similar to the transition-state theory of chemical processes, it can be considered that:

$$\log \mu = \frac{-E_A}{2.303R} \frac{1}{T} + C$$

where C is a constant.

Then, Gibbs free energy changes associated with this processes can be calculated using the following equation:

$$\Delta G^\circ = RT \ln \frac{kT}{\mu h} = RT \left(\ln \frac{kT}{h} - \ln \mu \right)$$

Values of ΔG° at different temperatures are compiled in Table 4.

The main conclusion of this work was that studies of temperature effects on ecological systems are important, because the microbial activity is very sensitive to temperature changes.

An improvement of the experimental protocol was done in 1999 [21] when Prof. Núñez determined the influence of glucose concentration on microbial activity in soil. The main conclusion of this research was that the optimum concentration of glucose was 1.25 mg glucose g⁻¹ soil. The values of the different parameters obtained in this study in the exponential phase are listed in Table 5. Recent studies of agricultural soils have shown that 'rich' soils of agricultural origin need higher amounts of glucose to develop a sufficient growth. More studies are performed by TERBIPROMAT to find the optimum concentration of glucose for each kind of soil. For example: a concentration of 2.50 mg glucose g⁻¹ soil is studied in agricultural soils with promising results.

Once the essential parameters for microcalorimetric measurements were obtained, the next step was to improve the sampling method in order to gain reproducible and representative results. At the same time, the influence of some physico-chemical parameters on the microbial growth in soils with different agricultural applications was analysed. That was the reason why the influence of different environmental parameters such as ambience and soil temperatures, moisture content (sample and residual), pH of water, and C/N ratio were introduced in 2002 [13]. Microcalorimetric techniques and environmental, physico-chemical and biological parameters were studied together for the first time [13]. It was concluded that cultivated soils showed a greater micro-

Table 5 Values of main parameters used in this study with different concentrations of glucose. The microcalorimetric values correspond to the exponential phase obtained from P - t curves. S_0 is the initial amount of glucose (in glucose mg^{-1}), S_t the amount of glucose at time t (after peak time) in glucose mg^{-1} , N_0 is the initial amount of biomass, N_t the amount of viable mass at time t [21]

	S_0 in mg glucose g^{-1} soil			
	1.25	5	20	50
$Q_t/\text{J g}^{-1}$	3.58 ± 0.40	4.95 ± 0.20	11.53 ± 0.21	16.49 ± 0.52
Peak-time/h	13.60 ± 0.46	17.10 ± 0.72	26.25 ± 0.29	45.83 ± 1.42
Peak-height/ J g^{-1}	6.56 ± 0.51	9.17 ± 0.25	15.95 ± 0.32	41.30 ± 0.84
N_0/g^{-1} soil	$2.30 \cdot 10^8$	$2.30 \cdot 10^8$	$2.30 \cdot 10^8$	$2.30 \cdot 10^8$
N_t/g^{-1} soil	$5.30 \cdot 10^8$	$7.11 \cdot 10^8$	$14.10 \cdot 10^8$	$22.75 \cdot 10^8$
$S_t/\text{mg glucose g}^{-1}$ soil	0.00	0.02 (0.36%)	0.13 (0.71%)	0.19(0.38%)
μ/h^{-1}	0.062 ± 0.003	0.066 ± 0.001	0.069 ± 0.002	0.050 ± 0.002

Table 6 Main characteristic microcalorimetric parameters for different forest formations in autumn: 1 – *Eucalyptus globulus* Labill (eucalyptus), 2 – *Pinus pinaster* Aiton (maritime pine), 3 – *Pinus sylvestris* L. (wild pine), and 4 – Atlantic-humic climate forest (oaks, maple trees, alders, birchs and willows) [2, 23, 24]

	1	2	3	4
P_t/h	175.75 ± 1.77 (1.01%)	19.62 ± 0.32 (1.64%)	10.75 ± 2.25 (0.65%)	20.27 ± 0.24 (1.18%)
$P_h/\mu\text{W}$	21.09 ± 0.92 (4.35%)	144.03 ± 1.10 (0.76%)	71.65 ± 0.52 (0.73%)	0.91 ± 0.01 (1.31%)
$Q_t/\text{J g}^{-1}$	6.32 ± 0.21 (3.26%)	885.02 ± 1.88 (0.21%)	345.05 ± 2.25 (0.65%)	1.73 ± 0.05 (2.74%)
μ/h^{-1}	0.00120 ± 0.00001 (1.09%)	0.0936 ± 0.0020 (2.15%)	0.0106 ± 0.0004 (3.57%)	0.0309 ± 0.0010 (3.38%)

Peak time, t_{\max} P_t (h) – is the time to reach the maximum of the peak, peak height, P_h (μW) – is the power at the maximum of the peak, Q_t (J g^{-1}) – is the total heat evolved up to the maximum of the power–time curve and μ (h^{-1}) – is the microbial growth rate constant

bial activity opposite to the no cultivated soils. The cultivated soils kept their properties nearly constant in values considered as optimal to assure adequate soil behaviour, both from physico-chemical and biological points of view. Because of this, a rational exploitation of soils allows a sustainable and stable microbial population, thus indicating the maintenance of soil productivity.

Following this research line, the investigations were focussed on different forest species in particular studies. In 2005 and 2006, new papers appeared analysing the influence of agricultural exploitation on the control of the productive capacity of soils [2, 22–24]. In particular, this study analysed the influence of two forest species, a pine and a fast growing species such as eucalyptus [2, 23, 24], on a typical soil of the zone, a humic Cambisol, which is usually covered by an Atlantic-humid climate forest. Both papers were pioneering and examples of combined studies, where thermal, environmental, physico-chemical, and biological parameters had the same importance [23, 24]. The most important characteristic microcalorimetric parameters are depicted in Table 6. Moreover, an essential improvement of the sampling procedure was

described [23, 24]. Analyses of the power–time curves lead to a deeper understanding of microbial activity in similar soils [2, 14–15, 20–24]. Today, the experimental procedure is improved by the determination and classification of different microbial communities found in soil. The main objective of these improvements is to introduce new techniques to assay the obtained results, to analyse the CO_2 generated in soils, and other questions.

Conclusions

The data presented here, are a summary of the conclusions obtained in the eight most important of our scientific papers. This study demonstrated definitely that the microbial activity, and of course soil behaviour, greatly depend on the environmental conditions and on the forest cover. The combined study of calorimetric, physical, chemical, biological and environmental features provides rapid and suitable information about microbial activities and soils' health state. This experimental procedure proposed and developed by Prof. Núñez and TERBIPROMAT has been success-

fully checked during more than 16 years using different kinds of soils, both in their natural status and in use, situated in various zones of Galicia. In our opinion, this experimental procedure could be used to study any type of soil.

A further important aim was to probe the advantage of microcalorimetry over the other techniques, based on the continuous monitoring of soil microbial activity. Microcalorimetry provides 'real information' leading to the determination of the productivity potential. Results obtained after a comparative study of similar soils subjected to different human activities could be the basis for campaigns designed to recover degraded soils or to avoid soil degradation. When this study is finished, it should be helpful to create a data basis to quantify and control soil potentiality for a rational and sustainable exploitation of the resources.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Vicerrectorado de Investigación, University of Santiago (Spain). An important part of this research was sponsored by Xunta de Galicia through the fund projects PGIDIT04REM206001PR and PGIDIT04PXIB20601PR.

We apologize for any omission. We know that this special paper was possible thanks to a lot of friends and colleagues of Prof. Núñez, but it would be impossible to thank all of them here. We thank from the bottom of our hearts all those people that helped us every time we needed it and whom we can not name here: scientific collaborators, colleagues, friends, editors of the different scientific publications, referees, and many others.

References

- 1 G. P. Sparling, *Soil Biology Biochem.*, 13 (1981) 93.
- 2 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras, O. Núñez-Fernández and M. Villanueva-López, *Soil Biol. Biochem.*, 38 (2006) 115.
- 3 B. Chardin, P. Gallice, J. C. Sari and M. Bruschi, *J. Therm. Anal. Cal.*, 70 (2002) 475.
- 4 R. Y. Stanier, E. A. Adelberg and J. L. Ingraham, *Microbiología, Reverté-Repla S. A.*, Barcelona 1985, p. 262.
- 5 I. Wadsö, A. E. Beezer, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, London 1980, p. 247.
- 6 K. Ljungholm, B. Norén, R. Sköld and I. Wadsö, *Oikos*, 33 (1979) 24.
- 7 I. Lamprecht, *Biological Microcalorimetry*, Academic Press, London 1980, p. 43.
- 8 H. Yamano and K. Takahashi, *Agric. Biol. Chem.*, 47 (1983) 1493.
- 9 J. P. Belaich, *Biological Microcalorimetry* Academic Press, New York 1980, p. 1.
- 10 W. W. Forrest, J. R. Norris and D. W. Ribbons (Eds), *Methods in Microbiology*, Academic Press, London 1972, p. 285.
- 11 L. D. Baver, W. H. Gardner and W. R. Gardner, *Soil Physics*, John Wiley & Sons Inc., New York 1991, p. 78.
- 12 J. K. Mitchell, *Fundamentals of Soil Behaviour*, John Wiley & Sons Inc., New York 1993.
- 13 L. Núñez-Regueira, O. Núñez-Fernández, J. A. Rodríguez Añón and J. Proupín Castiñeiras, *Thermochim. Acta*, 394 (2002) 123.
- 14 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *Thermochim. Acta*, 237 (1994) 73.
- 15 L. Núñez, N. Barros and I. Barja, *J. Thermal Anal.*, 41 (1994) 1379.
- 16 L. Núñez Regueira, I. Gómez-Orellana, N. Barros Pena, R. Chamy and J. M. Lema, *Thermochim. Acta*, 172 (1990) 163.
- 17 A. F. Danil de Namor, D. A. Pacheco Tanaka, L. Núñez Regueira and I. Gómez Orellana, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 88 (1992) 1665.
- 18 I. Gómez Orellana, N. Barros, I. Barja and L. Núñez Regueira, *Thermochim. Acta*, 219 (1993) 135.
- 19 R. Chamy, L. Núñez-Regueira, I. Gómez, M. J. Núñez and J. M. Lema, *Biotechnol. Techn.*, 9 (1995) 231.
- 20 M. I. Barja, J. Proupín and L. Núñez, *Thermochim. Acta*, 303 (1997) 155.
- 21 I. Barja and L. Núñez, *Soil Biol. Biochem.*, 31 (1999) 441.
- 22 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras and O. Núñez-Fernández, *J. Therm. Anal. Cal.*, 80 (2005) 35.
- 23 L. Núñez-Regueira, J. A. Rodríguez-Añón, J. Proupín-Castiñeiras, M. Villanueva-López and O. Núñez-Fernández, *J. Therm. Anal. Cal.*, 84 (2006) 7.
- 24 L. Núñez-Regueira, J. Proupín-Castiñeiras, J. A. Rodríguez-Añón, M. Villanueva-López and O. Núñez-Fernández, *J. Therm. Anal. Cal.*, 85 (2006) 271.

DOI: 10.1007/s10973-006-7844-3

Calorimetric seasonal characterization of culture and pasture soils

J. Salgado · M. Villanueva · O. Núñez-Fernández ·
J. Proupín-Castiñeiras · N. Barros ·
J. A. Rodríguez-Añón

Received: 1 December 2008 / Accepted: 4 March 2009 / Published online: 28 July 2009
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2009

Abstract Isothermal and Differential Scanning Calorimetry is applied to analyze the evolution of soil using its microorganisms and organic matter as bioindicators of soil quality. This study was carried out with two similar soils under different agricultural activities: culture and pasture. Sampling and measurements were performed through 1 year in order to check the sensitivity of common calorimetric indicators of microbial activity and organic matter to the different climatic seasons in the sampling place: spring, summer, fall and winter. Results show that these indicators are sensitive to changes related to climatic conditions but the variability depended also on the nature of the soil: pasture or agricultural land. The results achieved through the present study show that the procedure here proposed could be used on any soil everywhere, providing the determination of the own parameters of soil and zones.

Keywords Soil · DSC · TAM · Biomass · Organic matter · Seasonal variations

Introduction

The Kyoto Protocol on Climate Change in 1997 demands the understanding of the behaviour of soil carbon dynamics, because the amount of soil organic matter represents one of the largest reservoirs of organic carbon on the global scale [1]. The annual rate at which the organic matter is lost can vary greatly, depending on cultivation practices, the type of plant cover, drainage status of the soil and weather conditions [2] and consequently, the soil exploitation must be under control. That is one of the main reasons why the Kyoto protocol advocates also for the introduction of new technologies to provide that control in a reliable, rapid and slightly destructive way. In this sense, different research groups have been working with calorimetric techniques in different soil research areas to give solid bioindicators of soil quality [3–6], informing about the impacts on the soils, as forest fires in N.W. of Spain [7–9]. This information can be given by calorimetry very fast and can contribute to the sustainable development of the soil system.

For these reasons is important to settle the role of calorimetry in soil research. One of the ways is by checking the sensitivity of the calorimetric indicators of microbial biomass and organic matter to the physic-chemical and environmental properties of the soil. Heterogeneities and discontinuities in the physic-chemical environment are a hallmark of soil systems with the obligation for soil microbes to adapt the metabolism [10]. The proposed calorimetric indicators in this paper have been applied in soil research [11–13], but curiously very few publications report about their sensitivity to detect metabolic activity and organic matter changes have been found [14, 15]. There is also a complete lack of information about the sensitivity of the calorimetric indicators to seasonal changes. The goal of this paper is to show how the

M. Villanueva · O. Núñez-Fernández · J. Proupín-Castiñeiras ·
J. A. Rodríguez-Añón
Research Group TERBIPROMAT, Department of Applied
Physics, University of Santiago de Compostela, Santiago de
Compostela, Spain

J. Salgado (✉) · N. Barros
Department of Applied Physics, University of Santiago de
Compostela, Santiago de Compostela, Spain
e-mail: j.salgado.carballo@usc.es

environmental changes associated to different seasonal climatic conditions affect to two of the most important indicators of soil quality: biomass and organic matter, given by isothermal calorimetry and DSC.

Materials and methods

Sampling

Soil samples from two soils located in Viveiro, Galicia, NW Spain, were collected during one year at the end of the four seasons (summer, autumn, spring and winter). These soils, a humic-eutrophic Cambisol soil, have a geological substrate consisting of slate and filites, with the same origin and identical physical environmental conditions, but under different agricultural exploitations. One is a Corn and Bean arable land and the other is a Pasture soil.

For collection of these samples, 100 m² of a land area were chosen and divided into 1 m² sites, six of which were randomly chosen after eliminating those situated in the borders [13]. Before collecting samples, the plant litter on each site was removed and then 1 kg of soil was taken from a depth of 5–15 cm. The sample was reduced through a coning and quartering procedure to a final size of about 400 g to obtain reproducible and representative results [16, 17]. The samples were introduced into polyethylene bags, to avoid contamination and loss of moisture and then sent to the laboratory in less than 10 h to avoid loss of moisture and thus keeping field conditions as steady as possible.

Data on environmental temperature and moisture were measured during sampling.

Laboratory sample preparation

Once in the laboratory, moisture content of the samples was determined by thermogravimetry.

Samples were sieved and then placed in hermetically closed polyethylene bags and left in the laboratory at 4 °C for up to 3 months to ensure reproducibility of measurements before being used for the calorimetric experiments [18].

Elemental composition

The determination of organic matter content and the C-to-N ratio, C/N, has been done. The C/N ratio is basic for determination of the mineralization degree of soil, and the organic matter content gives information about the capacity of a soil to supply nutrients to the living phase in it for a correct development [19]. Total nitrogen was determined by Kjeldahl method. The elemental composition was determined in the laboratories of the Elemental Analysis Service of Santiago University.

Isothermal calorimetry

Calorimetric experiments were performed using a micro-calorimeter 2277 Thermal Activity Monitor (TAM) Thermometric AB. Measurements were carried out in hermetically sealed 5 mL stainless steel ampoules. Soil samples of 1 g size at water-holding capacity were treated with 1.25 mg of glucose. Experiments were repeated four times. The reference ampoule was filled with 1 mL of distilled water. The soil microbial activity due to the glucose addition is given as power–time curves. Integration of these curves provides values of the total heat evolved by that process, Q_T . The direct analysis of these curves also yields the evolution of the Peak time (Pt), which is the time to reach the maximum value of the peak, the value of the Peak height (Ph), which is the power at the maximum of the peak, and the microbial growth rate constant, μ [13, 18, 20].

Differential scanning calorimetry

DSC curves of the soil samples were carried out using a Differential Scanning Calorimeter (DSC-2910 TA-Instruments) and replicated six times. These DSC curves were obtained under a dry air flowing at 110 cm³ min⁻¹, and a scanning rate of 10 °C min⁻¹, using samples between 10 and 30 mg of soil into open aluminium pans. The range of temperatures studied was between 50 and 600 °C.

The heat of combustion and the ignition temperature of the soil organic matter were calculated directly from the DSC curves of the dry soil. These parameters provide us information about the potential of thermal degradation of the soils. This method was widely described in previous papers [7, 8, 21].

Results and discussion

Figure 1 shows the power–time curve of the pasture soil in summer. It follows the typical pattern associated to a microbial growth reaction which is very common in soils when they are amended with an easily degradable external C source as glucose [18]: a small lag phase, less than 5 h, an exponential growth phase from 5 to 20 h, followed by a very short steady phase. The power–time curve declines to a new stationary metabolism 25 h after the beginning of the calorimetric measurement, characterized by a balance between the dead and alive microorganisms due to the exhaustion of the external carbon resource.

Figures 2 and 3 show the power–time curves obtained for the culture and pasture soils during the different seasons. The ANOVA of the tabulated data gave significant differences among the samples and among the different seasons

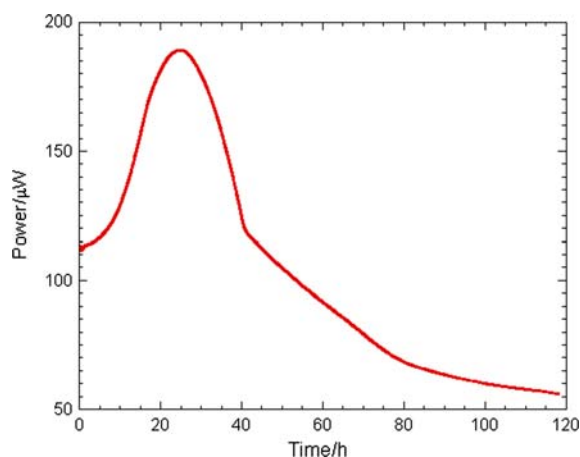


Fig. 1 Typical power-time curve from TAM

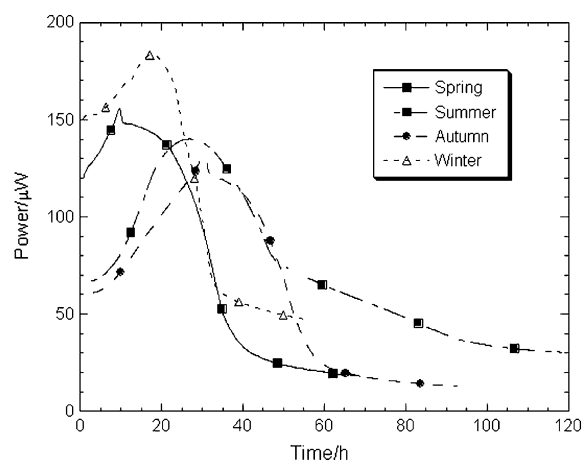


Fig. 3 Power-time curves of every season of pasture soil

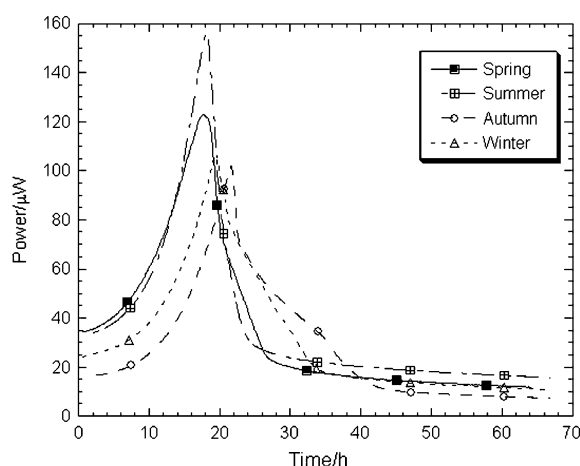


Fig. 2 Power-time curves of every season of culture soil

suggesting metabolic adaptations to the environment. In the pasture soil, the values of peak time are different, ranging from 8.75 to 30.71 h in spring and in autumn, respectively. The reason could be attributed to differences in the initial quantity of biomass that is activated by the glucose. That is given by the heat rate during the lag phase [22, 23]. It can be observed in Figs. 2 and 3 that the heat rate during the lag phases is different. Moreover, culture soils reach the new stationary metabolism before than pasture soils (40 and 60 h, respectively).

Figure 4 shows, as example, the DSC curves of both soils sampled in spring which present three well defined peaks, the first one is endothermic and is provoked by the loss of water and volatile substances, the second peak, exothermic, due to the combustion of the soil organic matter, taking place between 220 and 570 °C approximately. This peak can be considered as the overlapping of two exothermic reactions from the decomposition and combustion of different organic matter components with distinct and contrasting thermal stability, the first one (Exo

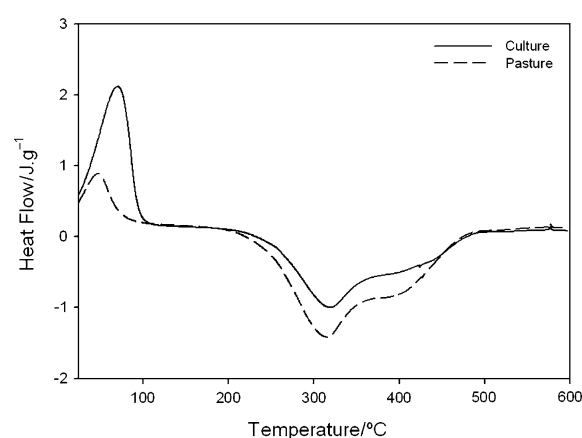


Fig. 4 Comparison of the DSC curves of culture and pasture soil sampling in spring

1) presents a minimum at 320 °C approximately, attributed to decomposition of more thermolabile compounds, basically aliphatic compounds, such as cellulose, hemicellulose, fulvic acid and simple sugars; whereas the second one (Exo 2) presents the minimum between 380 and 400 °C, due to decomposition of less thermolabile material, mainly aromatic components, such humic acids and lignin. The last peak, endothermic, is due to the polymorphic transformation of the quartz [21].

Figure 5 shows the DSC curves of all the samples of culture soil. These samples were previously dehydrated in an oven at 100 °C during 2 h, being that the reason why the first endothermic peak is not present. Figure 6 shows the DSC curves of all pasture soils samples. All the DSC curves showed a shoulder at temperatures corresponding to Exo 2, more than a peak in strict sense, suggesting that the aliphatic components are in major proportion than the aromatics in all the samples in both soils, being in agreement with the main components of the vegetation that normally cover these soils, corn, bean and grass are poor in lignin.

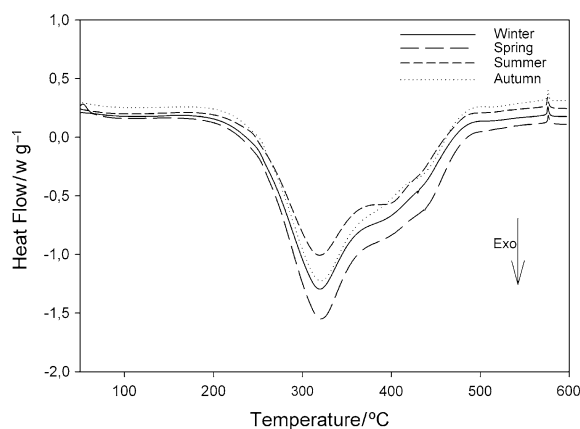


Fig. 5 DSC curves of dehydrated samples of the arable soil

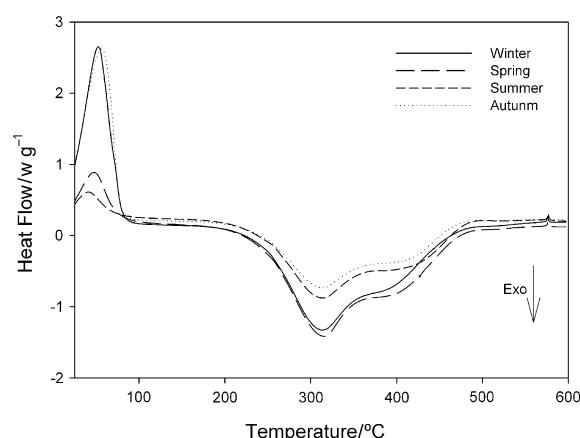


Fig. 6 DSC curves of seasonal samples of the pasture soil

Tables 1 and 2 compile the main values of the parameters determined from these curves as well as the values of the organic matter content and the relation C/N. These results were obtained from DSC and TAM experiences. In these tables, it can be emphasized that:

- No significant differences in all the parameters (peak time, peak height, or total heat evolved during the processes) of the four samplings of culture soil have been found, except in the C/N ratio. These values are constant along the year because arable soil was under human “control”. That makes this land less sensitive to the changing climatic conditions (temperature and humidity). The values of all the parameters in the pasture soil are not as stable as the arable land. It seems this soil is more affected by the climatic regime in the sampling location.
- Although relations C/N are very similar, they are more stable in the pasture soil. The most suitable value of C/N is that obtained in summer in the arable land because during the late winter–spring the soil is fertilized, probably with organic fertilizers that alter the C/N ratio. On the contrary the pasture soil shows the less favoured C/N ratio in summer probably because it coincides with the highest vegetable growing rate that may deplete the soil N levels.
- The organic material content is practically constant for culture soils along the year due to the continuous addition of manures, whereas pasture soil presents seasonal variations.
- The heat of combustion of the organic matter and the organic matter content of the pasture soil presented the lowest values in summer and autumn, coinciding in these seasons with the highest values of the heat released by the microorganisms. Due probably to that in winter the microorganisms are in a semi-latent state as a consequence of the climatic conditions, whereas with the increase of temperature in the late spring, the microorganisms start to degrade the organic matter, which decreases as a consequence of the microbial activity in summer and fall.
- Values of total heat evolved during the processes, Q_t , are higher for pasture soils than for the arable land. The pasture also shows a higher heat rate during the lag phase than the arable land. Then, the high values of Q_t

Table 1 Values of the organic matter content (OMC), C to N ratio (C/N), peak time (Pt), peak height (Ph), total heat (Q_t), partial Heat (Q_p), microbial growth rate constant (μ), heat of combustion (Q), ignition temperature (T_{ign}) and temperature of the minimum of the combustion peak in DSC curves of culture soil

	Winter	Spring	Summer	Autumn
OMC (%)	8.0	7.8	8.6	7.9
C/N	14	17	10	11
Pt (h)	19.2 ± 0.6	18.3 ± 0.6	18.7 ± 0.9	21.0 ± 0.9
Ph (μ W)	106 ± 4	122 ± 5	157 ± 7	114 ± 5
Q_t (Jg^{-1})	3.35 ± 0.08	3.31 ± 0.02	3.28 ± 0.07	3.79 ± 0.05
Q_p (Jg^{-1})	1.70 ± 0.03	2.13 ± 0.03	2.26 ± 0.08	1.60 ± 0.02
μ (h^{-1})	0.107 ± 0.003	0.088 ± 0.002	0.106 ± 0.005	0.112 ± 0.001
Q (J/g)	1.18 ± 0.08	1.26 ± 0.09	1.14 ± 0.17	1.18 ± 0.03
T_{ign} ($^{\circ}C$)	244 ± 1	247 ± 1	244 ± 1	247 ± 1
T_{min} ($^{\circ}C$)	319 ± 1	320 ± 1	320 ± 1	321 ± 1

Table 2 Values of the organic matter content (OMC), C to N ratio (C/N), peak time (Pt), peak height (Ph), total heat (Qt), partial Heat (Qp), microbial growth rate constant (μ), heat of combustion (Q), ignition temperature (T ign) and temperature of the minimum of the combustion peak in DSC curves of pasture soil

	Winter	Spring	Summer	Autumn
OMC (%)	11.8	9.5	7.9	7.0
C to N ratio	12	11	17	12
Pt (h)	17.9 \pm 0.4	8.8 \pm 0.3	25.2 \pm 0.7	30.7 \pm 0.8
Ph (μ W)	185 \pm 3	153 \pm 3	144 \pm 4	133 \pm 3
Q _t (Jg ⁻¹)	2.25 \pm 0.08	5.35 \pm 0.18	1.56 \pm 0.17	8.38 \pm 0.26
Q _p (Jg ⁻¹)	2.00 \pm 0.01	0.84 \pm 0.03	3.77 \pm 0.10	3.99 \pm 0.02
μ (h ⁻¹)	0.0192 \pm 0.0004	0.0122 \pm 0.0001	0.0378 \pm 0.0009	0.0356 \pm 0.0007
Q (J/g)	1.75 \pm 0.03	1.45 \pm 0.47	1.01 \pm 0.13	0.98 \pm 0.21
T. ign (°C)	243 \pm 3	239 \pm 1	237 \pm 1	236 \pm 1
T min (°C)	314 \pm 1	317 \pm 1	316 \pm 1	313 \pm 1

could be attributed to the higher microbial biomass in the pasture than in the arable land.

- Values of Q_t for the arable land are also constant through the year suggesting a very stable microbial population also. On the contrary, the values of Q_t in the pasture vary depending on the season, indicating a microbial biomass sensitive to the climatic changes and an adaptation of the microbial metabolism to the different climatic seasons.
- Peak height values, P_h , are higher for the pasture also, in agreement with the highest active initial biomass in this soil. Arable land also shows a very stable value of microbial growth rate constant (μ) through the seasons, in agreement with the observed stability in the Q_t values while the μ value in the pasture is a sensitive parameter that shows a clear increase in the summer and fall, in agreement with the observed Q_t values and the observed trend in the organic matter content and the heat of combustion. It is clear that the manipulation of the arable lands for agriculture production makes that soil less sensitive to the environmental changes. On the contrary the pasture responds to the different seasons showing a clear depletion of the parameters linked to the quantity and nature of the organic matter when the parameters associated to the microbial activity increase. That happens in summer and fall in the pasture soil while winter and spring depletes the microbial activity favouring the accumulation of the organic matter during that period. The proposed parameters can show clearly these trends.

Conclusions

Calorimetry (TAM and DSC) is a suitable tool for the study of microbial activity in soils.

The proposed parameters are sensitive enough to detect changes in the microbial metabolism and in the quantity and nature of the organic matter caused by the climatic

seasons. The adaptation of the metabolism is responsible for arising or depleting the quantity of the organic matter. It can be detected in soil with no human manipulation. The control of the arable land to keep the production makes the soil less sensitive to the environmental changes showing very stable values of the parameters linked to the microbial activity and organic matter through the year.

Calorimetry is a very useful method for continuous control of the soil since it permits to detect changes associated to the biomass and organic matter, easily, ecologically and fast. So, calorimetry shows as a very reliable method to assess microbial activity in soils. The main advantage of calorimetry over the other techniques is based on the continuous monitoring of soil microbial activity that provides a real and direct information that leads to productivity potential determination.

References

- Schlesinger WH. An overview of the carbon cycle. In: Lal R, Kimble J, Levine E, Stewart BA, et al., editors. *Soils and global change*. Boca Raton, FL: CRC Press/Lewis Publishers; 1995. p. 9–26.
- Zdruli P, Jones RJA, Montanarella L (2004) Organic matter in the soils of Southern Europe. European Soil Bureau Technical Report. EUR 21083 EN; 2004: 1–14.
- Barros N, Feijóo S. A combined mass and energy balance to provide bioindicators of soil microbiological quality. *Biophys Chem*. 2003;104(3):561–72.
- Barros N, Feijóo S, Simoni JA, Airolidi C, Ramajo B, Espina A. A mass and energy balance to provide microbial growth yield efficiency in soil. Sensitivity to metal layering phosphates. *J Therm Anal Calorim*. 2008;93(2):657–65.
- García JMP, Mothe Filho HF, Zuquete LV. Study of soils by thermal analysis. *J Therm Anal Calorim*. 2008;93(1):253–6.
- Rodríguez-Añón JA, Proupín-Castineiras J, Villanueva-López M, Núñez-Fernández O. Development of an experimental procedure to analyse the “soil health state” by microcalorimetry. *J Therm Anal Calorim*. 2007;87(1):15–9.
- Salgado J, González MI, Armada J, Paz Andrade MI, Carballas M, Carballas T. Loss of organic matter in Atlantic forest soils due to wildfires: calculation of the ignition temperature. *Thermochim Acta*. 1995;259:165–75.

8. Salgado J, Mato MM, Vázquez-Galiñanes A, Paz Andrade MI, Carballas T. Comparison of two calorimetric methods to determine the loss of organic matter in Galician soils (NW Spain) due to forest wildfires. *Thermochim Acta*. 2004;410:141–8.
9. Salgado J, Paz-Andrade MI. The effect of Firesorb as a Fire retardant on the thermal properties of a heated soil. *J Therm Anal Calorim*. 2009;95(3):837–42.
10. Gustafsson L. 1994 and all that: ecology in a calorimeter. *Thermochim Acta*. 1995;251:69–70.
11. Barros N, Feijóo S, Simoni JA, Prado AGS, Barboza FD, Airolidi C. Microcalorimetric study of some Amazonian soils. *Thermochim Acta*. 1999;328:99–103.
12. Critter SAM, Freitas SS, Airolidi C. Microcalorimetric measurements of the metabolic activity by bacteria and fungi in some Brazilian soils amended with different organic matter. *Thermochim Acta*. 2004;417:275–81.
13. Núñez-Regueira L, Rodríguez-Añón JA, Proupín-Castiñeiras J, Núñez-Fernández O, Villanueva M. Microcalorimetric study of changes in the microbial activity in a humic Cambisol after reforestation with eucalyptus in Galicia (NW Spain). *Soil Biol Biochem*. 2006;38:115–24.
14. Barros N, Airolidi C, Simoni JA, Ramajo B, Espina A, García JR. Calorimetric determination of the effect of ammonium-iron (II) phosphate monohydrate on *Rhodococcus Eutrudox* Brazilian soil. *Thermochim Acta*. 2006;441:89–95.
15. Barros N, Gallego M, Feijóo S. Sensitivity of calorimetric indicators of soil microbial activity. *Thermochim Acta*. 2007;458:18–22.
16. Petersen RG, Calvin LD. Sampling. In: Klute A, editor. *Methods of soil analysis, Part 1: physical and mineralogical methods*. 2nd ed. Madison, WI: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America; 1998. p. 33–51.
17. Tan KH. *Soil sampling preparation and analysis*. New York: Marcel Dekker; 1996. p. 11–40.
18. Núñez L, Barros N, Barja I. A kinetic analysis of the degradation of glucose by soil microorganisms studied by microcalorimetry. *Thermochim Acta*. 1994;237:73–81.
19. Knapp EB, Elliott LF, Campbell GS. Carbon, nitrogen and microbial biomass interrelationships during the decomposition of wheat straw: a mechanistic simulation model. *Soil Biol Biochem*. 1983;15(4):455–61.
20. Kimura T, Takahashi K. Calorimetric studies of soil microbes: quantitative relation between heat evolution during microbial degradation of glucose and changes in microbial activity in soil. *J Gen Microbiol*. 1985;131:3083–9.
21. Barros N, Salgado J, Feijóo S. Calorimetry and soil. *Thermochim Acta*. 2007;458:11–7.
22. Sparling GP. Estimation of microbial biomass and activity in soil using microcalorimetry. *J Soil Sci*. 1983;34:381–90.
23. Sparling GP. Heat output of the soil Biomass. *Soil Biol Biochem*. 1981;13:373–6.